



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2023

Thèse N° 388

Evaluation de la performance du système VITEK 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech.

THESE

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 30/11/2023

PAR

M. Hamza HADDANI

Né le 30 Juillet 1994 à Safi

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

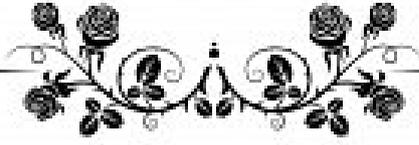
MOTS-CLES

Vitek 2 - Identification bactérienne -Antibiogramme-Méthodes classiques

JURY

M	S. ZOUHAIR Professeur de Microbiologie	PRESIDENT
M.	M. MILOUDI Professeur agrégé de Microbiologie-virologie	RAPPORTEUR
Mme.	L. ARSALANE Professeur de Microbiologie-virologie	} JUGES
M.	Y. EL KAMOUNI Professeur de Microbiologie-virologie	
Mme.	K. ZAHLANE Professeur de Microbiologie-virologie	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



سورة العلق آية 5



Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune Considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948



LISTE DES PROFESSEURS



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr Mohammed BOUSKRAOUI
Vice doyen à la Recherche et la coopération : Pr. Hanane RAISS
Vice doyen aux affaires pédagogiques : Pr. Ghizlane DRAISS
Vice doyen chargé de la Pharmacie : Pr. Said ZOUHAIR
Secrétaire Général : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Liste nominative des personnels enseignants chercheurs permanents

N°	Nom et Prénom	Cadre	Spécialité
01	BOUSKRAOUI Mohammed (Doyen)	P.E.S	Pédiatrie
02	CHOULLI Mohamed Khaled	P.E.S	Neuro pharmacologie
03	KHATOURI Ali	P.E.S	Cardiologie
04	NIAMANE Radouane	P.E.S	Rhumatologie
05	AIT BENALI Said	P.E.S	Neurochirurgie
06	KRATI Khadija	P.E.S	Gastro-entérologie
07	SOUMMANI Abderraouf	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
08	RAJI Abdelaziz	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
09	KISSANI Najib	P.E.S	Neurologie
10	SARF Ismail	P.E.S	Urologie

11	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	P.E.S	Ophtalmologie
12	AMAL Said	P.E.S	Dermatologie
13	ESSAADOUNI Lamiaa	P.E.S	Médecine interne
14	MANSOURI Nadia	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
15	MOUTAJ Redouane	P.E.S	Parasitologie
16	AMMAR Haddou	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
17	ZOUHAIR Said	P.E.S	Microbiologie
18	CHAKOUR Mohammed	P.E.S	Hématologie biologique
19	EL FEZZAZI Redouane	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
20	YOUNOUS Said	P.E.S	Anesthésie-réanimation
21	BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	P.E.S	Chirurgie générale
22	ASMOUKI Hamid	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
23	BOUMZEBRA Drissi	P.E.S	Chirurgie Cardio-vasculaire
24	CHELLAK Saliha	P.E.S	Biochimie-chimie
25	LOUZI Abdelouahed	P.E.S	Chirurgie-générale
26	AIT-SAB Imane	P.E.S	Pédiatrie
27	GHANNANE Houssine	P.E.S	Neurochirurgie
28	ABOULFALAH Abderrahim	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
29	OULAD SAIAD Mohamed	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
30	DAHAMI Zakaria	P.E.S	Urologie
31	EL HATTAOUI Mustapha	P.E.S	Cardiologie
32	ELFIKRI Abdelghani	P.E.S	Radiologie
33	KAMILI El Ouafi El Aouni	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
34	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	P.E.S	Pédiatrie (Néonatalogie)
35	MATRANE Aboubakr	P.E.S	Médecine nucléaire
36	AIT AMEUR Mustapha	P.E.S	Hématologie biologique
37	AMINE Mohamed	P.E.S	Epidémiologie clinique
38	EL ADIB Ahmed Rhassane	P.E.S	Anesthésie-réanimation
39	MANOUDI Fatiha	P.E.S	Psychiatrie
40	CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	P.E.S	Radiologie
41	BOURROUS Monir	P.E.S	Pédiatrie
42	ADMOU Brahim	P.E.S	Immunologie

43	TASSI Noura	P.E.S	Maladies infectieuses
44	NEJMI Hicham	P.E.S	Anesthésie-réanimation
45	LAOUAD Inass	P.E.S	Néphrologie
46	EL HOUDZI Jamila	P.E.S	Pédiatrie
47	FOURAJI Karima	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
48	ARSALANE Lamiae	P.E.S	Microbiologie-virologie
49	BOUKHIRA Abderrahman	P.E.S	Biochimie-chimie
50	KHALLOUKI Mohammed	P.E.S	Anesthésie-réanimation
51	BSISS Mohammed Aziz	P.E.S	Biophysique
52	EL OMRANI Abdelhamid	P.E.S	Radiothérapie
53	SORAA Nabila	P.E.S	Microbiologie-virologie
54	KHOUCHANI Mouna	P.E.S	Radiothérapie
55	JALAL Hicham	P.E.S	Radiologie
56	OUALI IDRISSE Mariem	P.E.S	Radiologie
57	ZAHLANE Mouna	P.E.S	Médecine interne
58	BENJILALI Laila	P.E.S	Médecine interne
59	NARJIS Youssef	P.E.S	Chirurgie générale
60	RABBANI Khalid	P.E.S	Chirurgie générale
61	HAJJI Ibtissam	P.E.S	Ophthalmologie
62	EL ANSARI Nawal	P.E.S	Endocrinologie et maladies métabolique
63	ABOU EL HASSAN Taoufik	P.E.S	Anesthésie-réanimation
64	SAMLANI Zouhour	P.E.S	Gastro-entérologie
65	LAGHMARI Mehdi	P.E.S	Neurochirurgie
66	ABOUSSAIR Nisrine	P.E.S	Génétique
67	BENCHAMKHA Yassine	P.E.S	Chirurgie réparatrice et plastique
68	CHAFIK Rachid	P.E.S	Traumato-orthopédie
69	MADHAR Si Mohamed	P.E.S	Traumato-orthopédie
70	EL HAOURY Hanane	P.E.S	Traumato-orthopédie
71	ABKARI Imad	P.E.S	Traumato-orthopédie
72	EL BOUIHI Mohamed	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
73	LAKMICH Mohamed Amine	P.E.S	Urologie
74	AGHOUTANE El Mouhtadi	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
75	HOCAR Ouafa	P.E.S	Dermatologie
76	EL KARIMI Saloua	P.E.S	Cardiologie
77	EL BOUCHTI Imane	P.E.S	Rhumatologie

78	AMRO Lamyae	P.E.S	Pneumo-phtisiologie
79	ZYANI Mohammad	P.E.S	Médecine interne
80	GHOUNDALE Omar	P.E.S	Urologie
81	QACIF Hassan	P.E.S	Médecine interne
82	BEN DRISS Laila	P.E.S	Cardiologie
83	MOUFID Kamal	P.E.S	Urologie
84	QAMOUSS Youssef	P.E.S	Anesthésie réanimation
85	EL BARNI Rachid	P.E.S	Chirurgie générale
86	KRIET Mohamed	P.E.S	Ophthalmologie
87	BOUCHENTOUF Rachid	P.E.S	Pneumo-phtisiologie
88	ABOUCHADI Abdeljalil	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
89	BASRAOUI Dounia	P.E.S	Radiologie
90	RAIS Hanane	P.E.S	Anatomie Pathologique
91	BELKHOUS Ahlam	P.E.S	Rhumatologie
92	ZAOUI Sanaa	P.E.S	Pharmacologie
93	MSOUGAR Yassine	P.E.S	Chirurgie thoracique
94	EL MGHARI TABIB Ghizlane	P.E.S	Endocrinologie et maladies métaboliques
95	DRAISS Ghizlane	P.E.S	Pédiatrie
96	EL IDRISSE SLITINE Nadia	P.E.S	Pédiatrie
97	RADA Noureddine	P.E.S	Pédiatrie
98	BOURRAHOUS Aicha	P.E.S	Pédiatrie
99	MOUAFFAK Youssef	P.E.S	Anesthésie-réanimation
100	ZIADI Amra	P.E.S	Anesthésie-réanimation
101	ANIBA Khalid	P.E.S	Neurochirurgie
102	TAZI Mohamed Illias	P.E.S	Hématologie clinique
103	ROCHDI Youssef	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
104	FADILI Wafaa	P.E.S	Néphrologie
105	ADALI Imane	P.E.S	Psychiatrie
106	ZAHLANE Kawtar	P.E.S	Microbiologie- virologie
107	LOUHAB Nisrine	P.E.S	Neurologie
108	HAROU Karam	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
109	BASSIR Ahlam	P.E.S	Gynécologie obstétrique
110	BOUKHANNI Lahcen	P.E.S	Gynécologie obstétrique
111	FAKHIR Bouchra	P.E.S	Gynécologie-obstétrique
112	BENHIMA Mohamed Amine	P.E.S	Traumatologie-orthopédie

113	HACHIMI Abdelhamid	P.E.S	Réanimation médicale
114	EL KHAYARI Mina	P.E.S	Réanimation médicale
115	AISSAOUI Younes	P.E.S	Anesthésie-réanimation
116	BAIZRI Hicham	P.E.S	Endocrinologie et maladies métaboliques
117	ATMANE El Mehdi	P.E.S	Radiologie
118	EL AMRANI Moulay Driss	P.E.S	Anatomie
119	BELBARAKA Rhizlane	P.E.S	Oncologie médicale
120	ALJ Soumaya	P.E.S	Radiologie
121	OUBAHA Sofia	P.E.S	Physiologie
122	EL HAOUATI Rachid	P.E.S	Chirurgie Cardio-vasculaire
123	BENALI Abdeslam	P.E.S	Psychiatrie
124	MLIHA TOUATI Mohammed	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
125	MARGAD Omar	P.E.S	Traumatologie-orthopédie
126	KADDOURI Said	P.E.S	Médecine interne
127	ZEMRAOUI Nadir	P.E.S	Néphrologie
128	EL KHADER Ahmed	P.E.S	Chirurgie générale
129	LAKOUICHMI Mohammed	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
130	DAROUASSI Youssef	P.E.S	Oto-rhino-laryngologie
131	BENJELLOUN HARZIMI Amine	P.E.S	Pneumo-phtisiologie
132	FAKHRI Anass	P.E.S	Histologie-embryologie cytogénétique
133	SALAMA Tarik	P.E.S	Chirurgie pédiatrique
134	CHRAA Mohamed	P.E.S	Physiologie
135	ZARROUKI Youssef	P.E.S	Anesthésie-réanimation
136	AIT BATAHAR Salma	P.E.S	Pneumo-phtisiologie
137	ADARMOUCH Latifa	P.E.S	Médecine communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
138	BELBACHIR Anass	P.E.S	Anatomie pathologique
139	HAZMIRI Fatima Ezzahra	P.E.S	Histologie-embryologie cytogénétique
140	EL KAMOUNI Youssef	P.E.S	Microbiologie-virologie
141	SERGHINI Issam	P.E.S	Anesthésie-réanimation
142	EL MEZOUARI El Mostafa	P.E.S	Parasitologie mycologie
143	ABIR Badreddine	P.E.S	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
144	GHAZI Mirieme	P.E.S	Rhumatologie
145	ZIDANE Moulay Abdelfettah	P.E.S	Chirurgie thoracique
146	LAHKIM Mohammed	P.E.S	Chirurgie générale

147	MOUHSINE Abdelilah	P.E.S	Radiologie
148	TOURABI Khalid	P.E.S	Chirurgie réparatrice et plastique
149	NADER Youssef	Pr Ag	Traumatologie-orthopédie
150	SEDDIKI Rachid	Pr Ag	Anesthésie-réanimation
151	ARABI Hafid	Pr Ag	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle
152	BELHADJ Ayoub	Pr Ag	Anesthésie-réanimation
153	BOUZERDA Abdelmajid	Pr Ag	Cardiologie
154	ARSALANE Adil	Pr Ag	Chirurgie thoracique
155	ABDELFETTAH Youness	Pr Ag	Rééducation et réhabilitation fonctionnelle
156	REBAHI Houssam	Pr Ag	Anesthésie-réanimation
157	BENNAOUI Fatiha	Pr Ag	Pédiatrie
158	ZOUIZRA Zahira	Pr Ag	Chirurgie Cardio-vasculaire
159	SEBBANI Majda	Pr Ag	Médecine Communautaire (Médecine préventive, santé publique et hygiène)
160	ABDOU Abdessamad	Pr Ag	Chirurgie Cardio-vasculaire
161	HAMMOUNE Nabil	Pr Ag	Radiologie
162	ESSADI Ismail	Pr Ag	Oncologie médicale
163	MESSAOUDI Redouane	Pr Ag	Ophtalmologie
164	ALJALIL Abdelfattah	Pr Ag	Oto-rhino-laryngologie
165	LAFFINTI Mahmoud Amine	Pr Ag	Psychiatrie
166	RHARRASSI Issam	Pr Ag	Anatomie-pathologique
167	ASSERRAJI Mohammed	Pr Ag	Néphrologie
168	JANAH Hicham	Pr Ag	Pneumo-phtisiologie
169	NASSIM SABAH Taoufik	Pr Ag	Chirurgie réparatrice et plastique
170	ELBAZ Meriem	Pr Ag	Pédiatrie
171	BELGHMAIDI Sarah	Pr Ag	Ophtalmologie
172	FENANE Hicham	Pr Ag	Chirurgie thoracique
173	GEBRATI Lhoucine	Pr Hab	Chimie
174	FDIL Naima	Pr Hab	Chimie de coordination bio-organique
175	LOQMAN Souad	Pr Ass	Microbiologie et toxicologie environnementale
176	BAALLAL Hassan	Pr Ag	Neurochirurgie
177	BELFQUIH Hatim	Pr Ag	Neurochirurgie
178	MILOUDI Mouhcine	Pr Ag	Microbiologie-virologie

179	AKKA Rachid	Pr Ag	Gastro-entérologie
180	BABA Hicham	Pr Ag	Chirurgie générale
181	MAOUJOURD Omar	Pr Ag	Néphrologie
182	SIRBOU Rachid	Pr Ag	Médecine d'urgence et de catastrophe
183	EL FILALI Oualid	Pr Ag	Chirurgie Vasculaire périphérique
184	EL- AKHIRI Mohammed	Pr Ag	Oto-rhino-laryngologie
185	HAJJI Fouad	Pr Ag	Urologie
186	OUMERZOUK Jawad	Pr Ag	Neurologie
187	JALLAL Hamid	Pr Ag	Cardiologie
188	ZBITOU Mohamed Anas	Pr Ag	Cardiologie
189	RAISSI Abderrahim	Pr Ag	Hématologie clinique
190	BELLASRI Salah	Pr Ag	Radiologie
191	DAMI Abdallah	Pr Ass	Médecine Légale
192	AZIZ Zakaria	Pr Ass	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale
193	ELOUARDI Youssef	Pr Ag	Anesthésie-réanimation
194	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Pr Ag	Hématologie clinique
195	EL FAKIRI Karima	Pr Ass	Pédiatrie
196	NASSIH Houda	Pr Ag	Pédiatrie
197	LAHMINE Widad	Pr Ag	Pédiatrie
198	BENANTAR Lamia	Pr Ag	Neurochirurgie
199	EL FADLI Mohammed	Pr Ag	Oncologie médicale
200	AIT ERRAMI Adil	Pr Ag	Gastro-entérologie
201	CHETTATI Mariam	Pr Ag	Néphrologie
202	SAYAGH Sanae	Pr Ass	Hématologie
203	BOUTAKIOUTE Badr	Pr Ag	Radiologie
204	DOUIREK Fouzia	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
205	EL HAKKOUNI Awatif	Pr Ass	Parasitologie mycologie
206	BELARBI Marouane	Pr Ass	Néphrologie
207	AMINE Abdellah	Pr Ass	Cardiologie
208	CHETOUI Abdelkhalek	Pr Ass	Cardiologie
209	WARDA Karima	Pr Ass	Microbiologie
210	EL AMIRI My Ahmed	Pr Ass	Chimie de Coordination bio-organique
211	CHAHBI Zakaria	Pr Ass	Maladies infectieuses
212	MEFTAH Azzelarab	Pr Ass	Endocrinologie et maladies métaboliques
213	ROUKHSI Redouane	Pr Ass	Radiologie

214	EL GAMRANI Younes	Pr Ass	Gastro-entérologie
215	ARROB Adil	Pr Ass	Chirurgie réparatrice et plastique
216	SALLAHI Hicham	Pr Ass	Traumatologie-orthopédie
217	ACHKOUN Abdessalam	Pr Ass	Anatomie
218	DARFAOUI Mouna	Pr Ass	Radiothérapie
219	EL-QADIRY Rabiyy	Pr Ass	Pédiatrie
220	ELJAMILI Mohammed	Pr Ass	Cardiologie
221	HAMRI Asma	Pr Ass	Chirurgie Générale
222	ELATIQUI Oumkeltoum	Pr Ass	Chirurgie réparatrice et plastique
223	BENZALIM Meriam	Pr Ass	Radiologie
224	ABOULMAKARIM Siham	Pr Ass	Biochimie
225	LAMRANI HANCHI Asmae	Pr Ass	Microbiologie-virologie
226	HAJHOUI Farouk	Pr Ass	Neurochirurgie
227	EL KHASSOUI Amine	Pr Ass	Chirurgie pédiatrique
228	SBAAI Mohammed	Pr Ass	Parasitologie-mycologie
229	FASSI Fihri Mohamed jawad	Pr Ass	Chirurgie générale
230	BENCHAFAI Ilias	Pr Ass	Oto-rhino-laryngologie
231	SLIOUI Badr	Pr Ass	Radiologie
232	EL JADI Hamza	Pr Ass	Endocrinologie et maladies métaboliques
233	AZAMI Mohamed Amine	Pr Ass	Anatomie pathologique
234	YAHYAOUI Hicham	Pr Ass	Hématologie
235	ABALLA Najoua	Pr Ass	Chirurgie pédiatrique
236	MOUGUI Ahmed	Pr Ass	Rhumatologie
237	SAHRAOUI Houssam Eddine	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
238	AABBASSI Bouchra	Pr Ass	Pédopsychiatrie
239	SBAI Asma	Pr Ass	Informatique
240	HAZIME Raja	Pr Ass	Immunologie
241	CHEGGOUR Mouna	Pr Ass	Biochimie
242	RHEZALI Manal	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
243	ZOUIA Btissam	Pr Ass	Radiologie
244	MOULINE Souhail	Pr Ass	Microbiologie-virologie
245	AZIZI Mounia	Pr Ass	Néphrologie
246	BENYASS Youssef	Pr Ass	Traumato-orthopédie
247	BOUHAMIDI Ahmed	Pr Ass	Dermatologie
248	YANISSE Siham	Pr Ass	Pharmacie galénique

249	DOULHOUSNE Hassan	Pr Ass	Radiologie
250	KHALLIKANE Said	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
251	BENAMEUR Yassir	Pr Ass	Médecine nucléaire
252	ZIRAOUI Oualid	Pr Ass	Chimie thérapeutique
253	IDALENE Malika	Pr Ass	Maladies infectieuses
254	LACHHAB Zineb	Pr Ass	Pharmacognosie
255	ABOUDOURIB Maryem	Pr Ass	Dermatologie
256	AHBALA Tariq	Pr Ass	Chirurgie générale
257	LALAOUI Abdessamad	Pr Ass	Pédiatrie
258	ESSAFTI Meryem	Pr Ass	Anesthésie-réanimation
259	RACHIDI Hind	Pr Ass	Anatomie pathologique
260	FIKRI Oussama	Pr Ass	Pneumo-phtisiologie
261	EL HAMDAOUI Omar	Pr Ass	Toxicologie
262	EL HAJJAMI Ayoub	Pr Ass	Radiologie
263	BOUMEDIANE El Mehdi	Pr Ass	Traumato-orthopédie
264	RAFI Sana	Pr Ass	Endocrinologie et maladies métaboliques
265	JEBRANE Ilham	Pr Ass	Pharmacologie
266	LAKHDAR Youssef	Pr Ass	Oto-rhino-laryngologie
267	LGHABI Majida	Pr Ass	Médecine du Travail
268	AIT LHAJ El Houssaine	Pr Ass	Ophtalmologie
269	RAMRAOUI Mohammed-Es-said	Pr Ass	Chirurgie générale
270	EL MOUHAFID Faisal	Pr Ass	Chirurgie générale

LISTE ARRETEE LE 04/10/2023



DÉDICACES



*Ce moment est l'occasion d'adresser mes remerciements
et ma reconnaissance et de dédier cette thèse*



Je dédie cette thèse



Tout d'abord à Allah,

*Louange à Dieu, Le tout puissant et miséricordieux qui
m'a donnée le courage et la force nécessaires pour mener à
bout ce projet, et qui m'a permis de voir ce jour tant
attendu.*

A mon cher papa Abderrahim HADDANI.

Aucune dédicace, cher papa, ne pourrait exprimer l'affection et l'amour que je te porte. Tes sacrifices innombrables et ton dévouement sont pour moi la plus grande des motivations.

Merci de m'avoir inculqué ces belles valeurs qui sont aujourd'hui des principes. Merci de te soucier autant de mon bonheur et de mon bien être.

Merci d'avoir fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

Je t'aime très fort papa.

A ma maman chérie Halima NISSOUR,

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'amour et l'attachement que je te porte très chère maman, toi qui m'a porté, accompagné, éduqué et surtout comblé d'amour et d'affection.

Tes conseils ont toujours réussi à éclairer mon chemin, et tes prières à accomplir mes rêves. Tu m'as toujours pris par la main, apporté ton soutien et consolé mes chagrins. Je n'aurais jamais pu en arriver là sans toi.

Grâce à ton amour, ta douceur, ta bienveillance et ta générosité, j'ai réussi à surmonter les moments les plus difficiles. Tu as toujours été mon réconfort, mon guide, mon repère et ma certitude.

Tu es ma source inépuisable de courage et de motivation, tu m'as toujours aidé à me relever à chaque fois que je tombais, et à persévérer à chaque fois que je ne voyais plus la lumière au bout du tunnel. Pour toutes les peines que tu as endurées en m'accompagnant durant ce long parcours, je ne peux qu'exprimer ma gratitude absolue

Merci pour ton sacrifice maternel inégalable. Merci pour toutes ces qualités humaines que tu ne cesses de nous inculquer mes sœurs et moi.

Puisse Dieu le tout puissant te préserver de tout mal, te combler de santé, de bonheur et t'accorder une longue et heureuse vie afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois. Je t'aime très forte maman.

A mes sœurs bien-aimées.

Compagnes de vie et piliers de mon existence. Votre soutien inébranlable a été le catalyseur de mes réussites. Chacune de vous a apporté une lumière unique à mon parcours académique.

À Fatima & Afaf, dont la sagesse m'a guidé dans les moments difficiles.

À Hind & Houda, dont le rire joyeux a dissipé les nuages sombres.

Et à Salma & Mouna, dont la force et la détermination ont été une inspiration constante.

Cette thèse est bien plus que des mots imprimés sur du papier ; c'est le reflet de l'amour, du sacrifice et du soutien que j'ai reçu de vous. Chacune de vos encouragements a été comme une boussole me guidant vers la réussite. A travers les hauts et les bas, vos cœurs ont été mes havres de paix.

Avec gratitude, dévouement et un amour infini, je dédie ce travail à mes sœurs qui ont fait de ce voyage académique une aventure collective. Puissiez-vous ressentir la chaleur de cette dédicace, tout comme je ressens la chaleur de votre amour chaque jour de ma vie."

*"À la mémoire chère de ma tante Aïcha HADDANI,
Dont la bienveillance et l'amour ont laissé une empreinte indélébile dans nos vies. Son héritage de gentillesse, de sagesse et de générosité continue de briller dans nos cœurs. Que cette thèse soit un humble hommage à son influence positive, et que son esprit bienveillant perdure dans nos souvenirs. En dédiant ce travail à sa mémoire, je célèbre la vie d'une personne exceptionnelle qui restera gravée dans nos pensées et nos cœurs pour toujours."*

À mes amis exceptionnels, les architectes de mes moments les plus mémorables.

Votre amitié a été la toile de fond de cette aventure académique.

À Chafik BIROUK, Mohamed Khalifi, Yassine O'UJADDI et Zakaria MALLOU dont le rire a égayé même les journées les plus sombres.

À Mohammed Amine AABIRATE, le compagnon de réflexion et de persévérance.

Et à Zakaria BILALI, dont le soutien indéfectible a été une force motrice.

Chacun de vous a enrichi ce parcours avec des éclats de joie, des encouragements sincères et des moments partagés. Cette thèse est dédiée à notre amitié, une force qui transcende les pages de ce travail. Que cette dédicace soit le témoignage de ma gratitude pour les souvenirs partagés et pour les liens qui perdureront bien au-delà de ces lignes. Merci d'avoir été les artisans de cette épopée académique, et que nos amitiés continuent d'éclairer nos vies à l'avenir.

À Khawla EZZAKI,

La lumière de ma vie et l'étoile qui a guidé chaque étape de ce voyage. Ta présence a transformé chaque défi en opportunité, chaque moment en souvenir précieux. Cette thèse est dédiée à toi, à notre complicité, à nos rires partagés, et à la force de ton amour qui a été mon moteur.

À travers ces pages, je veux que tu trouves une expression humble de ma gratitude pour tout ce que tu es. Que cette dédicace soit le reflet de l'impact profond que tu as eu sur ma vie académique et personnelle. Merci d'être ma source d'inspiration constante et ma plus grande alliée. Que notre avenir soit aussi lumineux que les moments que nous avons partagés jusqu'à présent.

À ma chère sœur amie Amina TOUNSAOUI,

C'est avec une profonde gratitude que je dédie ce travail de thèse à une source infinie d'inspiration et de soutien. Ta foi en mes capacités et ton encouragement constant ont été les piliers qui ont rendu cette réalisation possible. Merci d'avoir partagé ce voyage avec moi. Que cette thèse soit un modeste témoignage de notre amitié et de notre complicité.

Avec tout mon amour,

À mon amie exceptionnelle Khadija FARHI,

Dans l'écriture de cette thèse, je suis amené à réfléchir sur le chemin parcouru et les personnes qui ont enrichi ce voyage. Parmi ces étoiles qui ont illuminé ma trajectoire, ta lumière brille d'une manière particulière.

En reconnaissance de notre amitié précieuse, je dédie ce travail avec gratitude. Ton soutien inébranlable et ta présence constante ont illuminé ce parcours académique. Merci d'être une source de joie et d'inspiration. Cette réalisation est aussi la tienne.

Bien amicalement,

À mes chères amies Sara JABAR, Zoubaida RABBANI et Salma ELAKARI,

Dans le labyrinthe de la vie, votre amitié a été le fil d'Ariane qui a éclairé mon chemin. Cette thèse, fruit de persévérance et de détermination, ne serait pas complète sans reconnaître l'influence positive que chacune de vous a eue sur ce parcours.

Sara, avec ta sagesse et ton esprit pragmatique, tu as été une source constante de conseils judicieux. Zoubaida, ton optimisme contagieux a été une bouffée d'air frais dans les moments de tension, et Salma, ta créativité débordante a coloré ce voyage académique de nuances uniques.

À travers ces mots, je souhaite immortaliser notre amitié et exprimer ma gratitude pour les éclats de rire partagés, les moments de compréhension tacite et le soutien inconditionnel. Puissent nos liens d'amitié continuer à s'épanouir et à enrichir nos vies.

Avec tout mon amour et ma reconnaissance,

*Chères membres et personnel du service de microbiologie, à
Dr Hamza, Dr Nouha, Dr Inssaf, Dr Hajiba, Dr Amine, Dr
Mohammed et Madame Loubna,*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers chacun(e)
d'entre vous pour votre dévouement exceptionnel au sein du
service de microbiologie. Votre expertise, votre
professionnalisme et votre engagement ont été des piliers
essentiels tout au long de ma collaboration avec le service.*

*Votre travail a contribué de manière significative à la réussite
de mes recherches, et je suis reconnaissant(e) de pouvoir
compter sur une équipe aussi compétente et dédiée. Votre
soutien a été crucial, et je tiens à vous remercier sincèrement
pour l'impact positif que vous avez eu sur mon travail.*

*Merci pour votre collaboration précieuse et pour l'excellence
que vous apportez au service de microbiologie. Votre
contribution ne passe pas inaperçue et est grandement
appréciée.*

Avec respect et reconnaissance,



REMERCIEMENTS



A Notre Maître et Président de Jury :
Monsieur le Professeur ZOUHAIR Saïd

C'est avec une profonde gratitude que je tiens à exprimer ma reconnaissance pour votre rôle essentiel dans la réalisation de ce travail académique. Votre expertise, vos conseils éclairés et votre engagement envers l'excellence ont été des phares qui ont guidé ce projet vers l'achèvement.

Votre soutien indéfectible a été une source d'inspiration tout au long de ce voyage intellectuel. Les défis que nous avons surmontés et les réussites que nous avons célébrées ensemble ont façonné cette expérience d'une manière inestimable.

Merci de m'avoir poussé à repousser mes limites, de m'avoir inspiré à atteindre de nouveaux sommets académiques et de m'avoir permis de grandir en tant que chercheur sous votre direction éclairée.

A Mon Maître et Rapporteur de thèse :

Monsieur le Professeur MILOUDI Mouhcine,

C'est avec une immense gratitude que je souhaite vous remercier pour votre contribution exceptionnelle à l'évaluation de ce travail de recherche. Votre expertise pointue, vos commentaires perspicaces et votre dévouement ont grandement enrichi la qualité de cette thèse.

Votre engagement professionnel et la rigueur avec laquelle vous avez examiné ce travail ont été une source d'inspiration. Les éclairages que vous avez apportés ont considérablement amélioré la clarté et la pertinence de mes idées.

Merci de consacrer votre temps et votre énergie à guider et à évaluer ce projet. Votre expertise a été cruciale dans mon parcours académique, et je suis reconnaissant d'avoir eu le privilège de bénéficier de vos conseils.

A Mon Maître et Juge

Madame le Professeur ARSALANE Lamiae

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude pour avoir accepté de faire partie du jury évaluant ma thèse. Votre expertise, votre objectivité et vos précieux commentaires ont été des éléments cruciaux dans la réussite de ce travail de recherche. Merci d'avoir consacré votre temps et votre expertise à évaluer ce travail. Votre contribution a grandement enrichi cette étape importante de mon parcours académique.

A Mon Maître et Juge :

Monsieur le Professeur EL KAMO'UNI Youssef,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail.

Un immense merci d'avoir accepté de faire partie du jury de ma thèse. Votre engagement renforce la valeur de cette étape cruciale de mon parcours académique. Je vous exprime ici mes remerciements sincères et mon profond respect.

A Mon Maître et Juge :

Madame le Professeur ZAHLANE Kawtar

C'est un très grand honneur que vous ayez accepté de siéger parmi notre honorable jury.

Je suis honoré(e) de bénéficier de votre évaluation précieuse, et cette collaboration promet d'enrichir cette étape cruciale de mon parcours académique.

Je vous exprime ici mes remerciements sincères, mon admiration et mon profond respect.



ABRÉVIATIONS



Liste des abréviations

SCN	:	Staphylococcus coagulase négative.
API	:	Analytical Profile Index
API 20 E	:	Analytical Profile Index 20 Entérobactérie
API 20 NE	:	Analytical Profile Index 20 Non entérobactérie
CMI	:	Croissance maximale inhibitrice
ECBU	:	Examen cyto bactériologique des urines
LBA	:	Liquide bronchio-alvéolaire
KV	:	Cathéter veineux
GN	:	Gram négatif
GP	:	Gram positif
BGN	:	Bacille à Gram négatif
AST	:	Anti Suscepyibility test
ME	:	Minor error
ME	:	Major error
TDA	:	Tryptophane désaminase.
H₂S	:	Hydrogen sulfide
ONPG	:	L'O-Nitrophényl-β-D-galactopyranoside
CLED	:	Cystine-Lactose-Electrolyte Déficient.
TSH	:	tryptone-soja-horse
SBA	:	Sheep-Blood-Agar.
MH	:	Mueller-Hinton
ANC	:	Acide Nalidixique-Colistine.
EUCAST	:	Comité Européen des Antibiogrammes



PLAN



INTRODUCTION	01
MATERIELS ET METHODES	04
I. Lieu d'étude	05
II. Période d'étude	05
III. Type d'étude	05
IV. Nature des prélèvements étudiés	05
V. Critères d'inclusion	05
VI. Critères d'exclusion	05
VII. Matériels et méthodes	06
1. Identification bactérienne	06
2. Etude de la sensibilité et de résistance	07
RESULTATS	08
I. Répartition des natures des prélèvements	09
II. Identification par coloration Gram	10
III. Test de performance du système Vitek2 d'identification bactérienne	11
1. Identification par la galerie API	11
2. Carte GN Vitek2 et API 20 E	11
3. Carte GN Vitek 2 et API 20 NE	12
4. Carte GP Vitek2 et API Staph	14
IV. Test de performance du système Vitek 2 d'antibiogramme	18
1. Carte AST-N357 des entérobactéries	19
2. Carte AST-P580 des staphylocoques	20
DISCUSSION	22
I. Rappels	23
1. Les entérobactéries	23
1.1. Définition	23
1.2. Classification	23
1.3. Caractères morphologiques	24
1.4. Caractères culturels	24
1.5. Caractères antigéniques	25
2. Les Staphylocoques	27
2.1. Définition	27

2.2. Caractères morphologique	28
2.3. Caractères culturaux	28
2.4. Caractères biochimiques	28
2.5. Habitat	29
II. Les prélèvements	30
III. L'examen microscopique	31
1. Examen direct à l'état frais	31
2. Examen microscopique après coloration	33
3. Coloration de Gram	33
IV. Culture et isolement des bactéries	36
1. Milieux de culture	36
2. Milieux liquides de base	36
3. Milieux d'isolement	37
4. Géloses de base	38
5. Géloses enrichies	39
5.1. Géloses au sang frais	39
5.2. Géloses au sang cuit	40
5.3. Géloses sélectives	40
V. Tests biochimiques utilisés dans l'identification des bactéries	42
1. Test de la catalase	42
1.1. Principe	42
1.2. Technique	43
1.3. Résultats	43
2. Test de l'oxydase	44
2.1. Principe	44
2.2. Technique	44
2.3. Résultats	44
VI. Identification bactérienne par la galerie API	45
1. Généralités	45
2. La galerie API 20 E	46
2.1. Principe	46
2.2. Mode opératoire	46
2.3. Résultats et Interprétation	48
3. La galerie API 20 NE	49
3.1. Principe	50

3.2. Mode opératoire	50
3.3. Résultats et interprétations	52
4. La galerie API Staph	53
4.1. Principe	53
4.2. Mode opératoire	54
4.3. Résultats et interprétations	55
VII. Antibiogramme classique	57
1. Introduction	57
2. Préparation de l'inoculum	57
3. Inoculation des géloses	58
4. Dépôts de disques imprégnés d'antibiotiques	59
5. Incubation des boîtes de Pétri	60
6. Lecture des boîtes après incubation	60
7. Mesure des zones d'inhibition et catégorisation clinique	61
VIII. Le système VITEK 2 compact	63
1. Historique	63
2. Principe	63
3. Technique	64
4. Description carte GN Vitek2 d'identification des BGN	66
5. Description carte GP Vitek2 d'identification des CGP	69
6. Détermination de la valeur CMI par le système Vitek2 compact	73
IX. Discussion des résultats	75
1. Identification bactérienne	77
2. Etude de sensibilité des entérobactéries par la carte AST-N370	78
3. Etude de sensibilité des staphylocoques par carte AST-P580	80
CONCLUSION	82
RESUMES	85
BIBLIOGRAPHIE	89



INTRODUCTION



L'identification bactérienne est une étape très importante dans le diagnostic d'une infection, impliquant la détection de l'agent pathogène, son classement dans une catégorie connue, et enfin, la détermination de l'agent responsable de la maladie.

Elle est réalisée par des techniques en perpétuelle évolution.

Historiquement, une identification dépendait uniquement de tests conventionnels : aspect macroscopique et examen microscopique à l'état frais et après coloration de Gram des colonies, conditions de culture en milieu solide ou liquide (tolérance à l'oxygène : bactéries aérobies, anaérobies, microaérophiles...) et l'étude du métabolisme bactérien grâce à des techniques biochimiques d'identification. (1)

Au début des années soixante-dix, les industries ont introduit des galeries miniaturisées comportant différents tests pour permettre la standardisation et la démocratisation de certains diagnostics d'espèces. Puis, 20 ans plus tard, les industries ont développé des systèmes automatiques d'identification bactérienne, comme les appareils Vitek-2® (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France), ou BD Phoenix® (BectonDinckinson, Diagnostics Systèmes, France) équipés d'étuves intégrées permettant des incubations raccourcies (2 à 6 h) par rapport aux galeries traditionnelles. Ces systèmes comparent le profil biochimique obtenu de la souche inconnue avec ceux de leur banque de données.

Après d'autres technologies d'identification de germes en culture reposant sur la biologie moléculaire sont apparues, telles que le séquençage de gènes ou l'amplification par PCR (Polymérase Chain Reaction) et la spectrométrie de masse (MALDI-TOF) qui est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique.

Le test de sensibilité aux antibiotiques, ou antibiogramme, est un test in vitro qui détermine la sensibilité des bactéries à des antibiotiques spécifiques.

L'**antibiogramme** joue un rôle thérapeutique crucial permettant le choix d'antibiotique adapté au traitement, et un rôle épidémiologique important dans la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques en fournissant des statistiques annuelles qui seront la base du traitement probabiliste. (55,57)

Il existe deux techniques pour évaluer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques :

- Antibiogramme qualitatif : Des disques d'antibiotiques sont placés sur une boîte de gélose avec des bactéries. La zone d'inhibition autour de chaque disque est mesurée et comparée à des diamètres critiques.
- Antibiogramme quantitatif : La CMI est déterminée comme la concentration la plus faible inhibant la croissance visible, en milieu gélosé par des bandelettes imprégnées d'un gradient d'antibiotique (E-test) ou en milieu liquidien où les automates déterminent la valeur CMI des antibiotiques pour une souche particulière.

Notre travail est basé sur une étude analytique descriptive entre les moyens classiques et le système VITEK 2 compact concernant l'identification bactérienne et l'étude de l'antibiogramme.

Cette étude a été effectuée pendant 10 semaines au sein du service de bactériologie-virologie d'hôpital militaire Avicenne de Marrakech HMA pour éventuellement tester la performance du système VITEK2 compact comparativement aux techniques conventionnelles d'identification bactérienne et d'antibiogramme.



MATÉRIELS ET MÉTHODES



I. Lieu d'étude :

Notre étude a été menée au sein du laboratoire de bactériologie Virologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech (HMA).

II. Période d'étude :

L'étude a duré pendant 9 semaines du 01/05/2023 au 09/07/2023.

III. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude analytique descriptive.

IV. Nature des prélèvements étudiés :

Les souches ont été isolées de différents prélèvements reçus au service de microbiologie de différents services hospitaliers et les consultations à titre externe.

V. Critères d'inclusion :

L'étude a porté sur tous les prélèvements bactériologiques à visée diagnostique reçus au laboratoire de microbiologie de l'HMA, provenant de patients hospitalisés dans les différents services de notre établissement ou consultant à titre externe.

L'étude inclut l'identification des entérobactéries et le BGN non fermentant et l'étude d'antibiogramme des entérobactéries et les staphylocoques.

VI. Critères d'exclusion :

- Prélèvements effectués dans le cadre d'une enquête épidémiologique.
- L'étude exclut l'antibiogramme des bacilles à Gram négatif non fermentant et les autres familles à Gram positif (entérocoques, streptocoque et pneumocoques).

VII. Matériels et méthodes :

1. Identification bactérienne :

1.1. Aspects macroscopiques :

Observation de la culture de départ : mise en évidence des caractères culturaux (exigeant ou non-exigeant, mésophile, thermophile...) et étude morphologique macroscopique des colonies.

Exemples :

- Des vagues successives avec une odeur de poisson pourri désagréable orientent vers « Proteus mirabilis ».
- Un pigment verdâtre ou pyoverdine avec une odeur de fleur de Seringa évoque « Pseudomonas aeruginosa ».

1.2. Aspects microscopiques :

Étude microscopique (état frais, coloration de Gram, mode de groupement, mobilité, affinités tinctoriales).

Exemples :

- Des bacilles fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire oriente vers Pseudomonas.
- Un Cocci GP (grappes de raisin) oriente vers Staphylocoque.

1.3. Tests enzymatiques rapides d'orientation (oxydase, catalase et coagulase).

- La détection de la présence de la catalase chez les CGP est essentielle pour différencier les Staphylococcaceae catalase positive des Streptococcaceae catalase négative.
- Le test de la coagulase différencie les souches de Staphylococcus aureus des autres espèces à coagulase négative (SCN).

- Le test de l'oxydase est un test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries Gram négative, telles que *Neisseria* ou *Pseudomonas*, et négative chez les entérobactéries et l'acinetobacter.

D'après cette démarche d'identification bactérienne les résultats vont servir vers le choix de la galerie API et la carte Vitek 2 à utiliser.

2. Etude de sensibilité et de résistance (Antibiogramme) :

- Méthode de diffusion (Classique) : des disques d'antibiotiques sont placés dans un milieu gélosé dédié à l'antibiogramme (Mueller-Hinton). Le diamètre d'inhibition autour de chaque disque est mesuré et comparé à des diamètres critiques fournis par CA-SFM.
- Systèmes automatisés (VITEK 2 compact) : la croissance ou l'inhibition bactérienne est mesurée à l'aide de méthodes optiques, les résultats étant interprétés par un logiciel. (Calcul de la valeur CMI par microdilution).



RESULTATS



I. Répartition des natures des prélèvements :

Le laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech HMA a reçu 81 prélèvements de différents services: service de médecine où sont regroupées plusieurs spécialités : le service de réanimation, de cardiologie, de médecine interne, de rhumatologie, de cardiologie, etc., les services de chirurgie : chirurgie générale, cardiovasculaire, thoracique, traumatologie- orthopédie, urologique,

Des prélèvements provenant de patients consultant en ambulatoire parviennent également dans notre laboratoire. Au total, n=33 (40.7%) des prélèvements ont été des ECBU ; n=29 (35.8%) d'examen cytobactériologique de PUS; n=7(8.6%) des biopsies ; n=7 (8.6%) des hémocultures ; n=4(5%) d'examen cytobactériologique de LBA et seulement un prélèvement (1.2%) de cathéter veineux. (Figure 1)

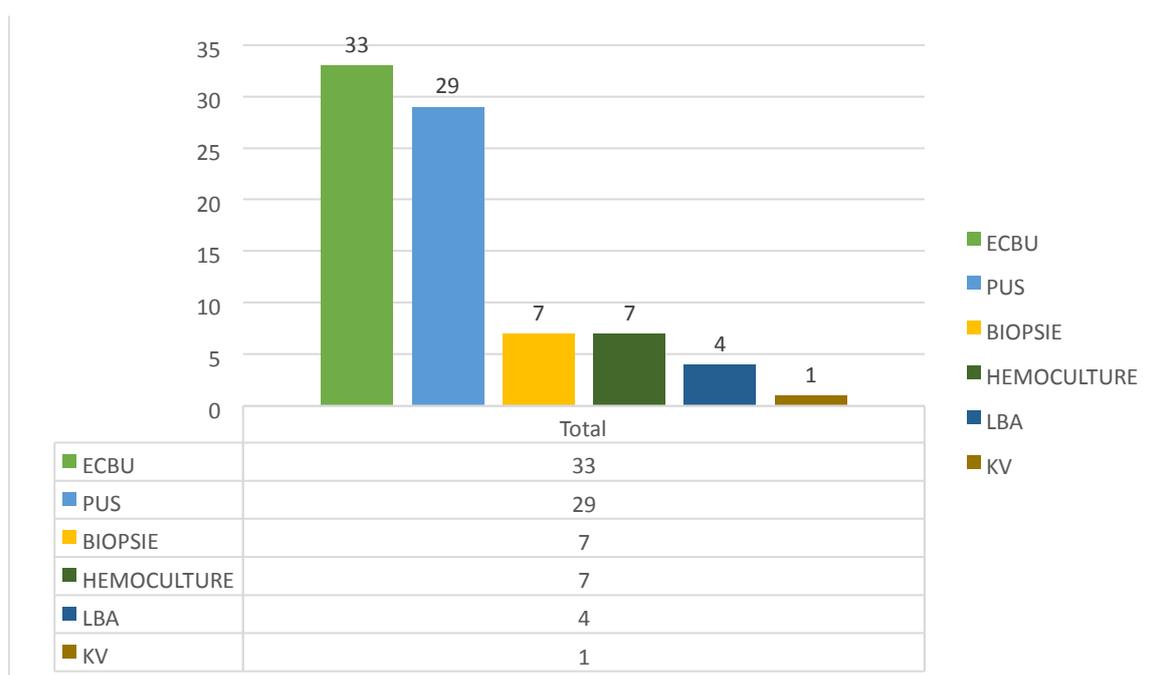


Figure 1 : Distribution des natures des prélèvements reçus au service de microbiologie d'hôpital militaire Avicenne de Marrakech HMA

II. Identification par coloration Gram :

La répartition globale des 81 prélèvements selon la coloration gram est répartie entre 60% de souches isolées à gram négatif et 40% à gram positif. (Figure2)

Chez les bactéries à gram négatif l'examen cyto bactériologique des urines était le prélèvement le plus dominant, d'autre coté les bactéries à gram positif apparaissent plus dans l'examen cyto bactériologique du pus. (Figure3)

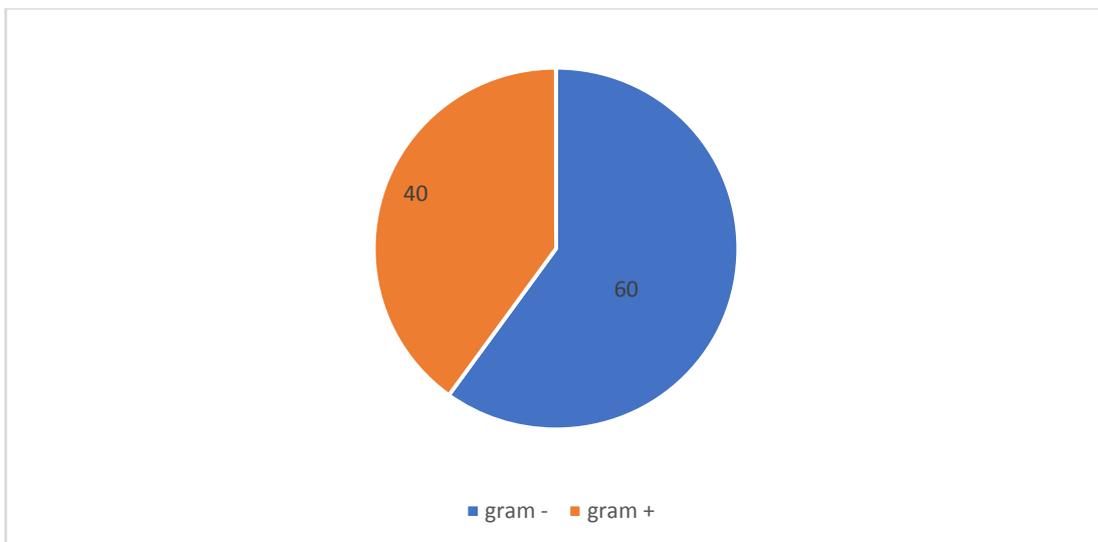


Figure 2 : Répartition des prélèvements reçus (après coloration Gram)

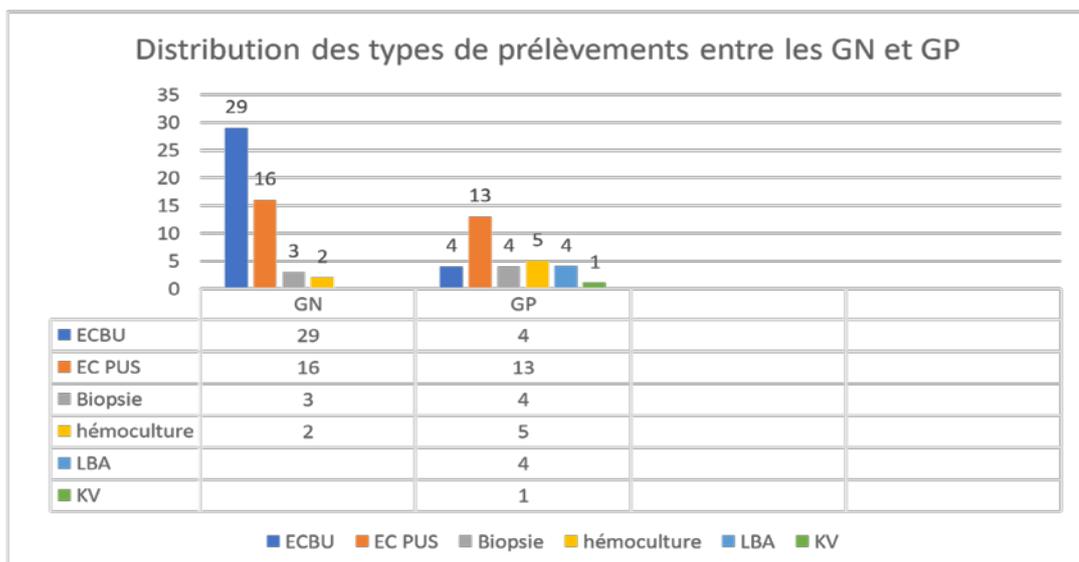


Figure 3 : Distribution détaillée de nature des prélèvements après coloration Gram.

III. Test de performance du système vitek 2 d'identification bactérienne :

1. Identification par la galerie API :

Après incubation, nous avons obtenu les résultats d'identification bactérienne par la galerie API 20 E API 20 NE et API staph comparativement aux résultats d'identification du système VITEK2 compact (Tableau I,II,IV) :

2. Carte GN VITEK2 d'identification bactérienne et API 20 E. :

Parmi 49 prélèvements (GN) VITEK 2 compact a donné une identification correcte de 45 prélèvements en utilisant la carte GN d'identification bactérienne comparativement à la galerie API E, soit 91.8% d'identification correcte du total de prélèvements.

Tableau I : Organismes GN fermentant correctement identifiés avec le système VITEK 2 compact.

Isolat		Isolat testé	Identification API 20E	Identification VITEK2	%Correctement identifié par VITEK2
		N°.	N°.	N°.	N°.
Entérobactéries	Escherichia coli	28	28	25	90%
	Enterobacter Cloacae	2	2	2	100%
	Klebsiella Oxytoca	1	1	1	100%
	Klebsiella pneumoniae	4	4	3	75%
	Proteus Mirabilis	2	2	1	100%
	Proteus Hauseri	1	1	1	100%
	Morganella morganii	1	1	1	100%
	Serratia marcescens	1	1	1	100%
	Raoutella planticola	1	1	1	100%
	Total GN fermentants	41	41	37	90,24%

3. Carte GN VITEK2 d'identification bactérienne et API 20 NE. :

Tableau II : Organismes GN non fermentants correctement identifiés avec le système VITEK 2 compact.

Isolat		Isolat testé	Identification API 20NE	Identification VITEK2	%Correctement identifié par VITEK2
		N°.	N°.	N°.	%
BGN non Fermentants					
Pseudomonas aeruginosa		4	4	4	100%
Aeromonas salmonicida		1	1	1	100%
Acinetobacter Baumannii		2	2	2	100%
Total GN non fermentants		7	7	7	100%
Autres	Burkholderia cepacia	1	1	1	100%
Total des BGN		49	49	45	92%

Evaluation de la performance du système Vitek 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech

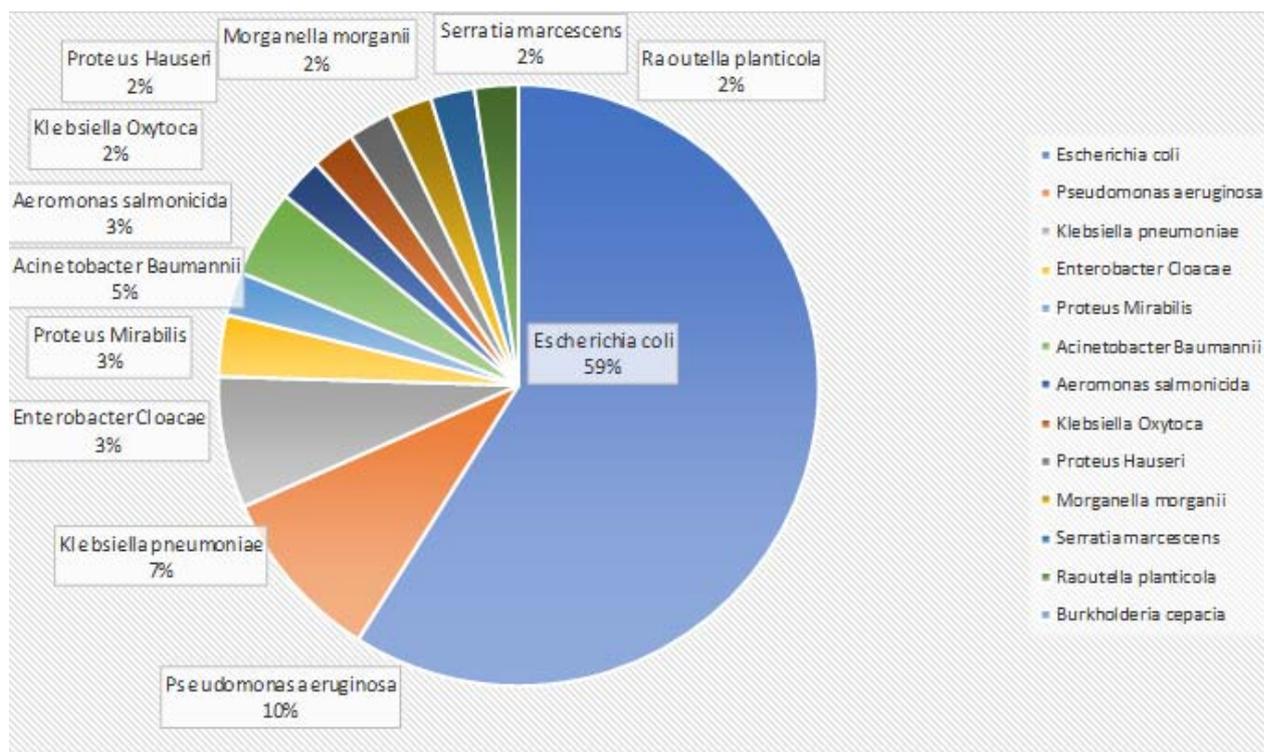


Figure 4 : Distribution des GN identifiées par le système VITEK2 compact.

On note dans (la figure 4) ci-dessus une prédominance de l'Escherichia coli avec une valeur de 59%. En parallèle on constate une prévalence significative du Pseudomonas aeruginosa 10% et aussi du Klebsiella pneumoniae 7%. D'un autre côté, les autres bactéries à gram négatif marquent une faible prévalence qui ne dépasse pas les 5%.

Tableau III : Organismes à identifications divergentes du système VITEK 2 comparativement à la galerie API 20 e

Identification API20E	Identification système Vitek2	Niveau de confiance Vitek2
Escherichia coli	Unidentified organism	Unidentified organism
Escherichia coli	Raoutella Planticola	Good identification
Escherichia coli	Raoutella Planticola	Very good identification
Klebsiella Pneumoniae	Unidentified organism	Unidentified organism

- Parmi 49 souches BGN (42 fermentantes et 7 non fermentantes) testées, 45 (91.8%) souches ont été correctement identifiées au niveau de l'espèce (tableau I,II).
- Seules deux souches (4.08%) ont été mal identifiées et deux souches (4.08%) n'ont pas été identifiées (tableau III) ; dont les résultats avec discordance d'identification étaient des BGN fermentantes et aucune discordance des résultats pour les BGN non fermentantes.
- Parmi les 45 BGN identifiées par le système Vitek2 compact en utilisant la carte GN d'identification bactérienne 25 isolats d'Escherichia coli ont été correctement identifiés, (prédominance de 59% du total des BGN identifiées).

4. Carte GP VITEK2 d'identification bactérienne et API 20 Staph. :

Parmi 32 prélèvements (GP à profil staphylococcique) VITEK 2 compact a donné une identification correcte de 28 prélèvements en utilisant la carte GP d'identification bactérienne comparativement à la galerie API staph, soit 87.5% d'identification correcte du total de prélèvements. (TableauIV)

Tableau IV : Organismes correctement identifiés avec le système VITEK 2 compact.

Isolats (Staphylococcus)		Isolats testés	Identification API Staph	Identification VITEK2	% Identification correcte VITEK2
		N°.	N°	N°	%
Coag (+)	Staphylococcus Aureus	9	9	8	90,00%
	Total	9	9	8	90,00%
Coag (-)	Staphylococcus haemolyticus	7	7	7	100.0%
	Staphylococcus capitis	3	3	2	75.0%
	Staphylococcus epidermidis	4	4	3	75.0%
	Staphylococcus hominis	6	6	5	83.3.0%
	Staphylococcus xylosus	1	1	1	100.0%
	Staphylococcus saprophyticus	1	1	1	100.0%
	Total	22	23	20	87.0%
Total général		32	32	28	87.5%

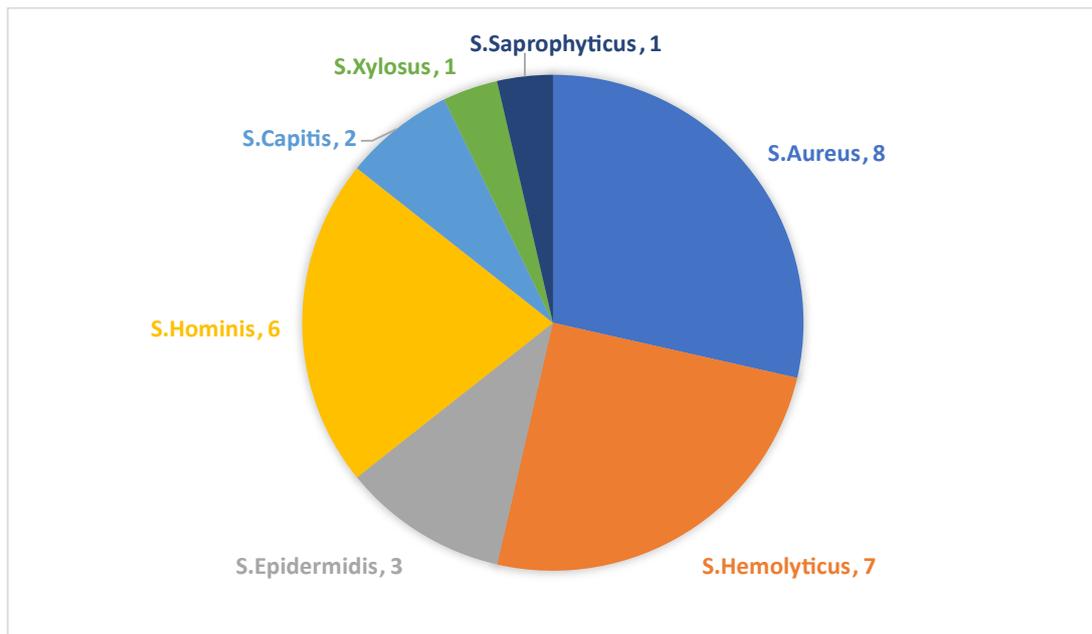


Figure 5 : Distribution des Staphylocoques identifiées par le système VITEK2 compact.

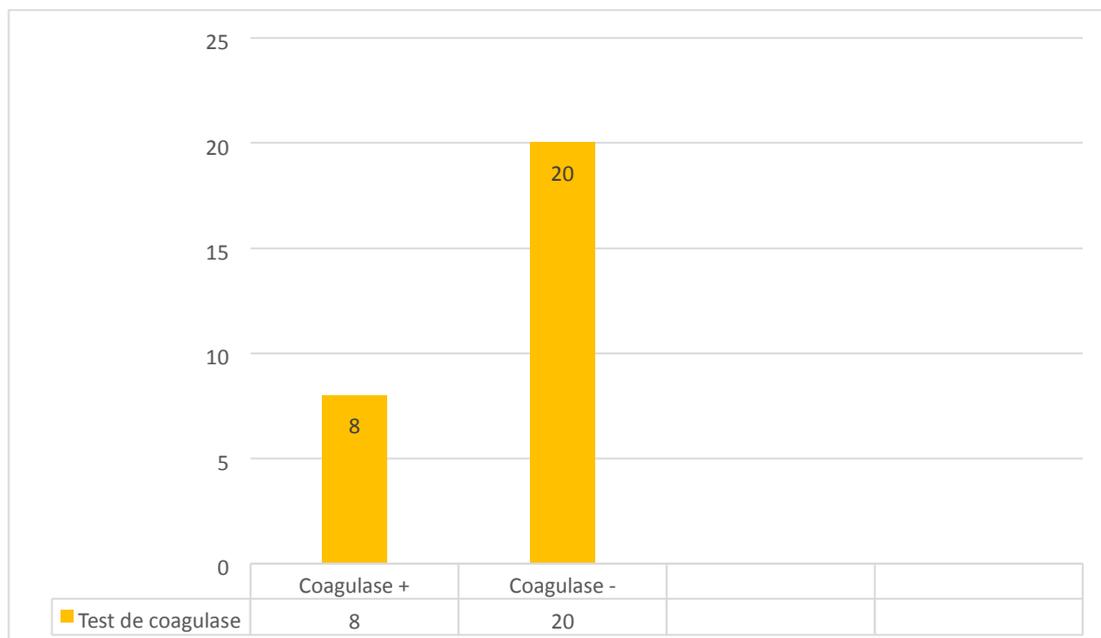


Figure 6 : Répartition des staphylocoques identifiés selon le test de coagulase.

Tableau V : Organismes à identifications divergentes du système VITEK 2 comparativement à la galerie API Staph.

Identification API Staph	Identification system VITEK 2	VITEK 2 niveau de confiance
Staphylococcus Aureus	Unidentified organism	Unidentified organism
Staphylococcus Capitis	Staphylococcus epidermidis	Excellent identification
Staphylococcus Epidermidis	Unidentified organism	Unidentified organism
Staphylococcus Saprophyticus	Unidentified organism	Unidentified organism

- Parmi 28 isolats de staphylocoque (8 à coagulase positive et 20 à coagulase négative) testées, 28 (87.5%) souches ont été correctement identifiées au niveau de l'espèce (tableau IV).
- Seule une souche (3.12%) a été mal identifiée et trois souches (9.37%) n'ont pas été identifiées (tableau V) ; parmi les souches avec des résultats discordants, 3 étaient des staphylocoques à coagulase négative et une à coagulase positive.
- Parmi les 28 staphylocoques identifiés par le système Vitek2 compact en utilisant la carte GP d'identification bactérienne 8 isolats de staphylocoque Aureus sont les plus identifiés (figure 5), néanmoins une grande prédominance des staphylocoques identifiés étaient à coagulase négative 20 (71.4%) contre huit (28.6%) des staphylocoques à coagulase positive (figure 6).

IV. Test de performance du système Vitek2 d'antibiogramme :

Les résultats de la comparaison des tests de sensibilité obtenus avec le système VITEK 2 compact AST-N357 et AST-P580 cartes avec celles obtenues par la méthode classique d'antibiogramme ont été exprimées en termes de d'accord catégorique et de désaccord catégorique.

Chaque fois qu'une méthode d'essai (VITEK 2 compact) a donné la même catégorie de sensibilité que celle de la méthode de référence (Antibiogramme classique), on dit qu'elle est catégoriquement acceptée.

Le désaccord catégorique a ensuite été caractérisé en erreur mineure (mE) et erreur majeure (ME).

Lorsque le résultat d'une méthode est intermédiaire et que l'autre méthode est sensible ou résistante, on dit qu'elle est erreur mineur (mE).

Lorsque la méthode de référence donne une catégorie résistante et que la méthode de test donne une catégorie sensible, cela s'appelle erreur majeur (ME).

Toutes les données collectées ont été saisies dans une feuille Microsoft Excel.

1. Carte AST-N357 des entérobactéries :

Tableau VI : Accord de la méthode classique d'antibiogramme et VITEK 2 compact pour 37 isolats cliniques d'entérobactérie.

Antibiotiques testés sur 37 isolats d'entérobactérie.	Nb et (%) de souches avec		
	Accord catégorique d'interprétation	Désaccord catégorique d'interprétation	
		Désaccord Mineur (mE)	Désaccord Majeur (ME)
Amoxicilline	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Ampicilline	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Amox/aclav	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Ticarcilline	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Pipéra/tazo	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Céfalexine	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Céfoxitine	36(97%)	1(3%)	0(0%)
Céfotaxime	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Céftazidime	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Imipénème	36(97%)	1(3%)	0(0%)
Amikacine	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Gentamicine	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Ciprofloxacine	35(94,5%)	2(5,5%)	0(0%)
Tigecycline	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Fosfomycine	37(100%)	0(0%)	0(0%)
Bactrim	37(100%)	0(0%)	0(0%)

Parmi les entérobactéries, la plupart des antibiotiques du panel Vitek2 compact ont montré une excellente concordance catégorielle de 100% sauf la céfoxitine et l'imipénème qui ont montré 97% et 94.5% pour la ciprofloxacine.

Le désaccord catégorique de la céfoxitine et l'imipénème était au niveau acceptable (<3%) en mE mais supérieure au niveau acceptable (>3%) pour la ciprofloxacine (5,3%) en mE.

Aucun désaccord catégorique de majeur erreur (ME) n'a été objectivé 0%.

2. Carte AST-P580 des staphylocoques :

Tableau VII : Accord de la méthode classique d'antibiogramme et VITEK 2 compact pour 28 isolats cliniques de Staphylocoques.

Antibiotiques testés sur 28 isolats de Staphylococcus	Nb et (%) de souches avec		
	Accord catégorique d'interprétation	Désaccord catégorique d'interprétation	
		Désaccord Mineur (mE)	Désaccord Majeur (ME)
Peni G	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Oxacilline/Céfoxitine	27(97%)	1(3%)	0(0%)
Lévofloxacine	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Moxifloxacine	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Gentamicine	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Tobramycine	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Erythromycine	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Clindamycine	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Linézolide	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Teicoplanine	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Acide fusidique	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Triméthoprim /Sulfaméthoxazole	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Fosfomycine	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Tétracycline	28(100%)	0(0%)	0(0%)
Tigecycline	28(100%)	0(0%)	0(0%)

**Evaluation de la performance du système Vitek 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme
au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech**

Parmi les Staphylocoques, la plupart des antibiotiques du panel Vitek2 compact ont montré une excellente concordance catégorielle de 100% sauf l'oxacilline qui a montré 97%.

Le désaccord catégorique de l'oxacilline était au niveau acceptable ($< 3\%$) en minor erreur (mE)

Aucun désaccord catégorique de major erreur (mE) n'a été objectivé 0%.



DISCUSSION



I. Rappels :

1. Les entérobactéries :

1.1. Définition :

Les entérobactéries forment une importante famille de bacilles à Gram négatif. Elles ont en commun leur localisation préférentielle au niveau du tube digestif de l'homme et des animaux d'où leur appellation « entérobactérie ». On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux. Ils peuvent persister en dehors d'organismes vivants, on les rencontre dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires [3,4,5].

La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants [3][4] :

- Bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large),
- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles,
- Poussant sur milieux de culture ordinaires,
- Aérobie – anaérobie facultatif,
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz,
- Réduisant les nitrates en nitrites,
- Oxydase négative.

1.2. Classification

Les *Enterobacteriaceae* englobent actuellement 100 espèces classées. (5)

Les genres et espèces les plus facilement isolés en bactériologie clinique sont regroupés dans le tableau VIII :

Tableau VIII : Classification des espèces d'Entérobactéries les plus fréquentes en clinique humaine [6]

Genres	Espèces
Escherichia Shigella Salmonella	E. coli
Klebsiella Enterobacter Serratia Proteus	S. dysenteriae, S. sonnei, S. boydii, S. flexerii
Providentia Morganella Citrobacter	S. typhi, Paratyphi A, B, C... >2000 sérotypes
Hafnia Yersinia	K. pneumoniae, K. oxytoca
	E. cloacae, E. aerogenes
	S. marcescens
	P. mirabilis, P. vulgaris
	P. rettgerii, P. stuartii
	M. morganii
	C. freundii
	H. alvei
	Y. pestis, Y. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis

1.3. Caractères morphologiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif, de 2 à 3 microns de long et de 0,6 microns de large, généralement polymorphes. La plupart des entérobactéries sont mobiles, grâce à leur ciliature péritriche. D'autres sont immobiles, telles que Klebsiella et Shigella. Les espèces pathogènes pour l'homme possèdent des facteurs d'adhésion : fimbriae ou pili [4,7].

1.4. Caractères cultureux

Les entérobactéries se développent rapidement in vitro sur des milieux ordinaires, en aéro-anaérobiose. La température optimale de croissance est de 37°C mais la culture est possible entre 20 et 40 °C. Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose.

Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type «smooth» ou S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough » ou R). Les Klebsiella forment des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes. Les Proteus ont tendance à envahir la gélose et à y former un tapis uniforme. En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme du bouillon [4,5,7].

1.5. Caractères biochimiques

L'identification du genre et espèce bactérienne repose d'abord sur l'étude des caractères biochimiques [7,8]. Des galeries biochimiques permettent de déterminer avec précision le genre et l'espèce, se basant sur :

- L'étude du métabolisme glucidique (dégradation des sucres : glucose, lactose, galactose),
- L'étude du métabolisme peptidique par la dégradation des acides aminés, recherche d'uréase et de tryptophane désaminase (TDA),
- L'utilisation du citrate comme seule source de carbone,
- La production d'acétoïne, d'H₂S,
- L'hydrolyse de la gélatine.

Tableau IX : Caractères biochimiques des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées :[7]

	Escherichia coli	Citrobacter	Enterobacter	Klebsiella	Serratia	Salmonella	Shigella	Proteus	Providencia	Yersinia
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Test à l'ONPG	+	+	+	+	+	-	+/-	-	-	+
Indole	+	-	-	+/-	-	-	+/-	+/-	+	+/-
VP (Acétoïne)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+ *
Citrate	-	+	+	+	+	+/-	-	+/-	+	-
Mobilité	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+ *
Uréase	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
TDA	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
H2S	-	+/-	-	-	-	+	-	+/-	-	-

1.6. Caractères antigéniques :

Le sérotypage des Entérobactéries est défini par différents antigènes [9]:

L'antigène O : est un antigène de paroi, thermostable c'est-à-dire résistant 2 h à un chauffage de 100°C, très toxique, responsable de la toxicité (endotoxine).

L'antigène H : est un antigène flagellaire de nature protéique, thermolabile détruit par l'alcool à 50% et par les enzymes protéolytiques.

L'antigène K : est un antigène capsulaire de nature polysaccharidique.

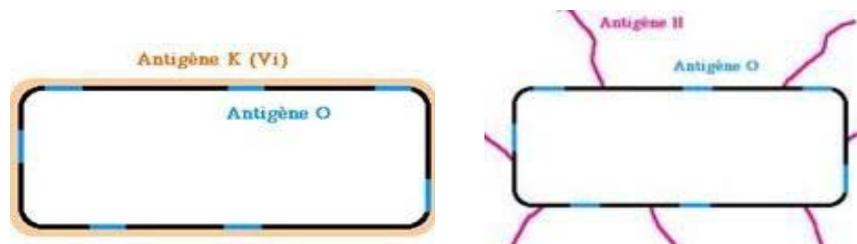


Figure 7 : Schéma représentant les différents antigènes (K, O, H) des Entérobactéries.

2. Les Staphylocoques :

2.1. Définition :

Les staphylocoques sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et de degrés de gravité divers. (11)

Elles sont un des premiers agents responsables d'infections nosocomiales (infections contractées en milieu hospitalier) mais elles peuvent aussi être contractées en dehors de l'hôpital (infections dites communautaires). (10.11)

Leur habitat naturel est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes. Cependant, ces bactéries sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (eaux non-traitées, sols, objets souillés). (58)

2.2. Caractères morphologiques :

Les staphylocoques sont des cocci de 0,1 à 1 µm de diamètre. Ils se présentent isolés, en diplocoques, ou en amas réalisant l'aspect caractéristique d'une grappe de raisin. Ce sont des germes à Gram-positif. Sauf très rares exceptions, ils sont dépourvus de capsule ; ils ne forment pas de spores. Ils se développent facilement, en aérobie ou en anaérobie (10.11)

De forme :

- Ronde
- Immobile
- Se présente généralement en amas à plans irréguliers dits « en grappe de raisin »

2.3. Caractères culturaux :

Les staphylocoques se développent en 24h à 37°C sur les milieux usuels.

Colonies grandes, éventuellement pigmentées et hémolytiques sur GS(*S.aureus*)

Aéro-anaérobie facultatifs, poussent en présence de forte cc de NaCl (7,5%).

2.4. Caractères biochimiques :

Les staphylocoques sont à catalase positif qui permet de les distinguer des streptocoques et les entérocoques.

Le test d'oxydase est négatif qui permet de les distinguer des *Micrococcus*.

Les staphylocoques fermentent le glucose et le glycérol.

Le genre *Staphylococcus* regroupe 35 espèces (44 espèces et sous-espèces). En pratique médicale courante, les espèces les plus fréquentes (infection ou colonisation) sont *S. aureus*, *S. epidermitis*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus* et *S. warneri*. (12)

Tableau X : Classification des staphylocoques selon test de coagulase.

Les staphylocoques	
Test de coagulase	
Coagulase positive (+)	Coagulase Négative (-)
Staphylocoque dorée (Staph Aureus)	S. capitis
	S. epidermidis
	S. haemolyticus
	S. hominis
	S. saprophyticus
	S. auricularis
	S. cohnii
	S. xylosus
	S. saccharolyticus
	Autres ...

2.5. Habitat :

Ubiquitaires, les staphylocoques sont présents sur de nombreux sites. Ils sont capables de vivre :

- En saprophytes (dans l'environnement extérieur) ;
- En commensaux sur les épithéliums de l'Homme et des animaux. (59)

II. Les prélèvements :

Les prélèvements permettent de mettre en évidence une bactérie responsable d'une infection dépendent du site anatomique atteint, mais peuvent correspondre à des liquides biologiques dans lesquels la bactérie ou des antigènes bactériens peuvent être détectés. (13)

Les échantillons biologiques sont prélevés dans des flacons stériles puis transmis au laboratoire le plus rapidement possible.

Un élément majeur caractérise les prélèvements lorsqu'ils sont mis en culture. Il s'agit de la présence éventuellement associée d'une flore bactérienne ou d'une contamination par cette même flore lors du prélèvement. Certains prélèvements proviennent de sites normalement stériles (liquide céphalorachidien, liquide articulaire, sang, biopsies, etc.) pour lesquels une contamination est très peu probable si la désinfection cutanée préalable au prélèvement a été correctement exécutée. L'interprétation de ces prélèvements est relativement aisée. Dans d'autres cas, le prélèvement provient d'un site anatomique normalement stérile mais la contamination par une flore endogène est pratiquement obligatoire (par exemple les prélèvements pulmonaires profonds comme les brossages distaux, même s'ils sont protégés). Enfin, lorsque la bactérie responsable de l'infection est associée à une flore endogène (c'est le cas dans les infections digestives, les infections cutanées, les angines, etc.), la présence de cette flore va interférer inévitablement avec l'isolement de la bactérie, ce qui nécessitera l'utilisation de milieux sélectifs et/ou de milieux d'enrichissement. (13)

Par ailleurs, il est vrai essentiellement dans les infections cutanées, qu'il faut distinguer les prélèvements superficiels et les prélèvements profonds, seuls ces derniers présentant un intérêt médical réel. (54)

Ces prélèvements sont soit de consistance liquide (urine, liquide céphalorachidien, liquides d'épanchement, etc.), soit de consistance solide (sécrétions visqueuses, des tissus, des biopsies, etc.), soit enfin du matériel (chambres implantables, cathéters, redons, drains, matériel prothétique, etc.). Dans le cas des hémocultures, le prélèvement de sang est directement mis dans un flacon de culture dès le prélèvement). (46)

En fonction du type de prélèvement, l'analyse bactériologique sera complétée par une analyse cytologique qui permet d'orienter vers une étiologie bactérienne ou virale en fonction du type de cellules retrouvé.

III. L'examen microscopique :

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais), ou bien après coloration de l'échantillon, ou encore après réaction d'immunofluorescence. Cet examen renseigne sur la présence de bactéries confirmant l'origine bactérienne d'une infection (morphologie, propriétés tinctoriales particulières après coloration de Gram ou coloration de Ziehl-Neelsen), ce qui représente un élément majeur pour une prise en charge thérapeutique adaptée. Ainsi, cet examen oriente sur une famille de bactéries ou un genre bactérien, permettant d'adapter ou de modifier une antibiothérapie. En fonction du prélèvement ou du contexte clinique, il peut dans certains cas, en quelques minutes, identifier de façon quasi certaine un pathogène. (13)

1. Examen direct à l'état frais :

Les méthodes fondées sur la technique de l'état frais correspondent à l'observation d'un matériel biologique ou d'une suspension bactérienne entre lame et lamelle sans fixation préalable du matériel par la chaleur ou l'alcool. (13)

L'examen direct à l'état frais est une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif 40. Les renseignements obtenus par cette observation concernent principalement la mobilité des bactéries. Il faut cependant être prudent sur le fait que des courants de convection dans ces conditions peuvent être présents et perturber l'observation. En fonction de la mobilité observée, si elle est présente, on peut préjuger du type de ciliature de la bactérie (monotriche, péritriche, etc.), ce qui oriente sur la bactérie en cause. Ainsi, par sa mobilité, *P. aeruginosa* par exemple peut se distinguer aisément d'une entérobactérie. Cet examen peut s'avérer très utile lors de la positivité d'une hémoculture. En effet, un doute peut persister sur l'orientation d'identification, après coloration de Gram d'un étalement du bouillon d'hémoculture coloré. Une mobilité importante avec des bacilles qui traversent le champ microscopique est en faveur de *P. aeruginosa* alors qu'une entérobactérie sera mobile sur elle-même dans la majorité des cas. (51)

Certaines bactéries de mobilité caractéristiques sont également repérées par la technique de l'état frais comme les vibrions ou les campylobactéries.

Cet examen peut être effectué après avoir lutté la lamelle sur la lame, c'est-à-dire après avoir déposé sur la totalité du pourtour de la lamelle un peu de paraffine préalablement fondue (Tableau. 3.4). Cette méthode permet de « sceller » la lamelle et ainsi d'empêcher les courants de convection. Dans ces conditions, une observation à l'immersion peut être effectuée. (43)

Tableau XI : Réalisation de l'état frais après avoir lutté la lamelle sur la lame

Nombre de bactéries par champ	Quantité de bactéries par ml
1 bactérie par 100 champs	10 ⁴ bactéries/ml (seuil estimé de sensibilité du microscope optique)
1 bactérie par 10 champs	10 ⁵ bactéries/ml
1 bactérie par 1 champ	10 ⁶ bactéries/ml
10 bactéries par champ	10 ⁷ bactéries/ml
100 bactéries par champ	10 ⁸ bactéries/ml

2. Examen microscopique après coloration :

Les techniques les plus communément utilisées au laboratoire de bactériologie médicale font appel à des colorations. La préparation est fixée sur une lame puis colorée. Plusieurs types de coloration existent. Les colorations non différentielles, anciennes, peu utilisées en pratique, colorent toutes les bactéries de la même façon sans distinction, si ce n'est qu'elles permettent de mieux visualiser les morphologies bactériennes et de préciser les agencements des bactéries les unes avec les autres. Les colorations différentielles distinguent les bactéries en fonction de la structure de leur paroi. Deux colorations de référence sont employées : la coloration de Gram distinguant bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif, et la coloration de Ziehl-Neelsen mettant en évidence les bacilles acido-alcool-résistants. (13)

Dans notre étude est basée surtout sur l'examen microscopique après coloration gram.

3. Coloration de Gram :

C'est la coloration de référence en bactériologie. Elle est réalisée comme suit et le résultat obtenu à chaque étape est schématisé dans la figure 8.

Sur frottis fixé à la chaleur puis à l'alcool (Fig. 8 A) :

- Recouvrir la lame de violet de gentiane : 1 minute (Fig. 8 B) ;
- Rejeter le violet de gentiane ;
- Recouvrir de Lugol : 1 minute (Fig. 8 B) ;
- Rejeter le Lugol ;
- Décolorer à l'alcool, la lame étant tenue inclinée. La durée de décoloration à l'alcool est variable selon l'épaisseur du frottis. En pratique, la durée de décoloration est suffisante lorsque ce qui s'écoule en bas de la lame inclinée est devenu clair ;

- Stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau (Fig. 8 C) ;
- Recouvrir la lame de fuchsine diluée, 30 secondes à 1 minute ;
- Laver à l'eau (Fig. 8 D) ;
- Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur ;
- Examiner à l'immersion.

Les bactéries à Gram positif doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose

(Fig. 9).

Lorsque la coloration est effectuée à partir d'un produit pathologique contenant des cellules ou des leucocytes, la coloration des noyaux de ces cellules doit apparaître violette et le cytoplasme rose.

Des variantes existent de cette coloration dans lesquelles le violet de gentiane est remplacé par le cristal violet. La décoloration à l'alcool peut être remplacée par une décoloration avec un mélange alcool-acétone.

Enfin, la fuchsine peut être remplacée par de la safranine.

Des techniques de coloration utilisant des appareils à colorer par spray sont également disponibles. Elles offrent l'avantage de consommer moins de colorant et d'éviter le rejet de colorants sous forme liquide.

Lorsque les prélèvements sont hémorragiques, les nombreuses hématies peuvent gêner l'observation microscopique. Dans ce cas, les frottis sont immergés pendant 5 minutes dans le liquide de Carnoy (24 ml de chloroforme, 8 ml d'acide acétique, alcool éthylique qsp 100 ml).

(13)

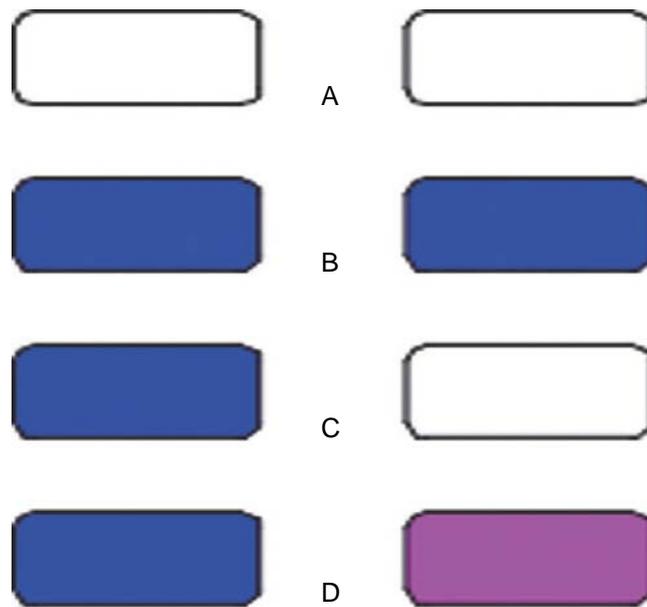


Figure 8 : Principe de la coloration de Gram, avec à gauche une bactérie à Gram positif et à droite une bactérie à Gram négatif.

- A. Bactéries fixées non colorées.
- B. Bactéries colorées par le violet de gentiane.
- C. Seules les bactéries à Gram positif restent colorées en violet après l'étape de décoloration.
- D. Les bactéries décolorées à l'étape précédente sont recolorées en rose par la fuchsine.

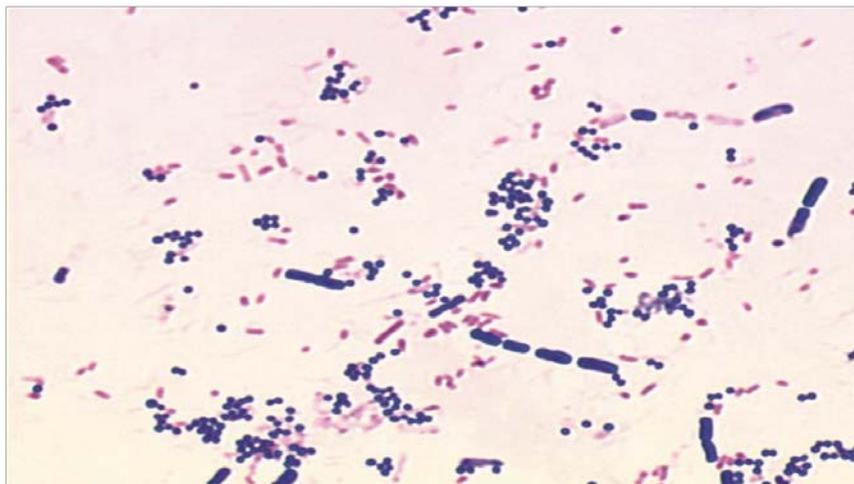


Figure 9 : Coloration de Gram appliquée à un mélange de germes (Bacillus cereus, Staphylococcus aureus et Salmonella Typhimurium). Observation à l'immersion (×1000).

IV. Culture et isolement des bactéries :

Les bactéries d'intérêt médical les plus fréquemment responsables d'infection arrivent à se développer sur des milieux de culture. Ces milieux de culture sont indispensables à la multiplication bactérienne, ce qui permet par la suite une identification bactérienne ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques lorsque la bactérie est isolée en culture pure. (44)

1. Milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés en bactériologie doivent contenir les éléments nécessaires à la survie et à la multiplication des bactéries et doivent posséder les propriétés physicochimiques convenant à cette culture (pH en particulier). (41)

Les milieux sont de différents types. Il s'agit soit de milieux de base, permettant la croissance d'espèces non ou peu exigeantes, soit de milieux enrichis par l'addition de diverses substances (sérum, œuf, sang, vitamines, etc.) qui autorisent la croissance de bactéries plus exigeantes. Il peut s'agir également de milieux rendus sélectifs par addition d'antibiotiques, d'antiseptiques ou de colorants qui vont inhiber les bactéries sensibles à ces composés. (13)

2. Milieux liquides de base :

Le milieu liquide de base est représenté par le bouillon nutritif ordinaire qui est composé de trois composants principaux, les peptones, les extraits de viande et les extraits de levure. Les peptones sont des hydrolysats enzymatiques de protéines animales ou végétales riches en acides aminés et en petits peptides. En fonction des enzymes utilisées, les compositions des peptones et leurs propriétés sont différentes. Les extraits de viande apportent des sels minéraux, des vitamines, des protéines peu dégradées et des glucides. Les extraits de levure, quant à eux, représentent une source d'acides aminés et de vitamines hydrosolubles. Du chlorure de sodium est habituellement ajouté à la concentration de 5 g/l. (13)

Les milieux se présentent sous forme liquide ou sous forme solide.

Par addition dans les milieux liquides d'un agent solidifiant, on obtient des milieux solides appelés communément gélose. En effet, l'agent le plus souvent utilisé est l'agar-agar (agar ou gélose) qui est un polysaccharide complexe provenant d'algues marines. (13)

Cette substance permet, à des concentrations de 15 à 20 g/l, de solidifier les milieux liquides. Cette gélose fond à 80 °C, reste en surfusion à des températures voisines de 50 °C et se solidifie à des températures inférieures.

Les milieux sont commercialisés soit sous forme de poudres déshydratées, soit prêts à l'emploi en tube ou en boîte de Petri.

Pour les poudres déshydratées, les milieux doivent être reconstitués selon les instructions du fabricant et doivent être autoclavés avant utilisation, sauf dans certains cas lorsque les milieux contiennent des composés thermolabiles. Les milieux prêts à l'emploi présentent l'avantage d'être de qualité constante et de garantir la croissance d'un certain nombre de bactéries testées avant mise sur le marché des lots fabriqués, cela bien évidemment sous condition d'avoir été stockés selon les recommandations du fabricant et d'être utilisés dans leur période de validité.(13)

3. Milieux d'isolement :

Les milieux d'isolement, contrairement aux précédents, sont des milieux solides qui permettent d'obtenir des colonies isolées permettant d'effectuer les tests d'identification ou d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'intérêt médical.

4. Géloses de base :

Ces géloses sont constituées par les géloses nutritives ordinaires, les géloses tryptone soja (ou trypticase soja). Ces milieux permettent la culture des bactéries non exigeantes.

La gélose de base Columbia est un milieu hautement nutritif permettant la culture des germes exigeants.

La gélose CLED (cystine-lactose-électrolyte déficient) est un milieu recommandé pour l'analyse bactériologique des urines. Ce milieu permet la croissance et l'isolement de la plupart des bactéries responsables d'infections urinaires. La déficience en électrolytes s'accompagne d'une absence de mobilité des *Proteus*.



Figure 10 : Gélose CLED

5. Géloses enrichies :

5.1. Géloses au sang frais :

Les géloses au sang frais, en général sang de mouton ou de cheval, sont obtenues en ajoutant à des géloses ordinaires du sang frais dans des proportions de 5 à 10% en volume. Ce sont des géloses qui permettent la croissance des bactéries exigeantes grâce à la présence de facteurs de croissance contenus dans le sang. En fonction de l'origine des hématies, le caractère hémolytique des bactéries peut varier. Les géloses au sang sont en général fabriquées soit à partir de géloses TS additionnées de sang de cheval (gélose TSH, pour *tryptone-soja-horse blood*), soit à partir de gélose de base Columbia, plus riches, additionnées de sang de mouton (gélose SBA, pour *sheep-blood-agar*).



Figure 11 : Gélose MH sang

5.2. Géloses au sang cuit :

Les géloses au sang cuit, appelées géloses « chocolat », permettent de libérer par la cuisson des facteurs de croissance supplémentaires. Néanmoins, ces géloses sont souvent supplémentées en vitamines (par exemple gélose chocolat Polyvitex®). Elles permettent la croissance des bactéries exigeantes, en particulier celles du genre *Haemophilus*.



Figure 12 : Gélose MH sang cuit / chocolat

5.3. Géloses sélectives :

a. Pour isolement des staphylocoques :

Le milieu de Chapman est un milieu au mannitol, hypersalé (75 g/l de chlorure de sodium), qui est sélectif pour les staphylocoques à l'exception de quelques espèces halophiles appartenant à d'autres genres bactériens. (58)



Figure 13 : Gélose sélective Chapman

*b. Isolement de *S. aureus*, des streptocoques hémolytiques et des entérocoques :*

La gélose Columbia ANC (acide nalidixique–colistine) est une gélose de base Columbia rendue sélective par addition d'acide nalidixique et de sulfate de colistine. Elle est en particulier utilisée à partir de prélèvements rhinopharyngés. (59)



Figure 14 : La gélose Columbia ANC

V. Tests biochimiques utilisés dans l'identification des bactéries :

En fonction de l'aspect morphologique des colonies bactériennes, de la morphologie des bactéries après coloration, de leurs caractéristiques de croissance (vitesse, type respiratoire, exigences culturales, etc.), de leur pigmentation, de leur odeur, de leur caractère hémolytique sur gélose au sang, le bactériologiste s'oriente sur une famille bactérienne ou un genre bactérien en particulier.

Il peut le cas échéant compléter sa présomption de genre bactérien par des tests d'orientation (type respiratoire, catalase et oxydase). Néanmoins, les identifications précises des espèces bactériennes font appel pour les bactéries d'intérêt médical les plus communes à des galeries d'identification biochimique manuelles ou pouvant être lues sur des systèmes automatisés – Vitek® (bioMérieux), Phoenix® (BD), Walk-Away® (Siemens) sont parmi les plus courants. (52)

Un certain nombre d'épreuves biochimiques de base sont utilisées dans l'élaboration des galeries d'identification des souches bactériennes.

Après avoir rappelé les tests d'orientation (type respiratoire, catalase et oxydase), un certain nombre d'épreuves métaboliques sont détaillées. Celles-ci concernent principalement le métabolisme glucidique, le métabolisme protéique et le métabolisme lipidique. Des tests d'agglutination viennent compléter l'identification bactérienne dans certains cas.

1. Test de la catalase :

1.1. Principe :

La Catalase neutralise les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène et sa concentration dans les bactéries a été corrélée avec la pathogénicité.

La détection de la présence de la catalase chez les bactéries est essentielle pour différencier les Staphylococcaceae et Micrococcaceae catalase-positive des Streptococcaceae catalase-négative. (58)

1.2. Technique :

Utiliser du peroxyde d'hydrogène à 3% disponible sur le marché pour tester une souche de bactérie aérobie. Conservez le peroxyde d'hydrogène au réfrigérateur dans une bouteille sombre.

La méthode la plus populaire en bactériologie clinique est la méthode de la catalase sur lame ou en goutte, car elle nécessite une petite quantité de culture et repose sur une technique relativement peu compliquée.

1.3. Résultats :

L'observation de la formation de bulles sur un fond sombre améliore la lisibilité. Utilisez une loupe pour observer les réactions positives faibles. Un microscope peut également être utilisé. Dans ce cas, placez une lamelle sur la lame et visualisez sous un grossissement de 40 fois. (58)

L'absence de la formation de bulles (aucune enzyme catalase pour hydrolyser le peroxyde d'hydrogène) représente une réaction négative.



Figure 15 : Réaction de catalase positive (par exemple S. Aureus).

2. Test de l'oxydase :

2.1. Principe :

Le test de l'oxydase est un test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries Gram négatif qui produisent cette enzyme, telles que *Neisseria* ou *Pseudomonas*.

Les Disques Oxydase sont des disques de papier absorbant imprégnés de N,N,N',N'-Tetraméthyl-p-phenylenediamine dihydrochloride.

En présence de cytochrome oxydase, le N,N,N',N'-Tetraméthyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (incolore) forme un composé coloré en bleu. (43)

2.2. Technique :

A l'aide de pince, placer un disque d'oxydase sur une lame porte objet.

Choisir une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester.

Prélever la colonie choisie à l'aide d'un bâtonnet ou d'une anse.

Frotter doucement la colonie sur le disque et observer l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 30 secondes.

2.3. Résultats :

Réaction positive : coloration bleu foncé à violet apparaissant dans un délai de 30 secondes.

Réaction négative : absence de coloration ou coloration au-delà de 30 secondes.



Figure 16 : À gauche, réaction d'oxydase positive (par exemple *P. aeruginosa*). À droite réaction négative (par exemple *E. coli*).

VI. Méthodes classiques d'identification bactérienne et d'antibiogramme :

1. Identification bactérienne par la galerie API ::

Galerie API (analytical profile index) est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques, exploitable avec des bases de données d'identification complètes. (15)

API Microsystems est un groupe de tests de bandelettes microbiologiques de marque commerciale ; fabriqué et présenté par BioMérieux® en 1970.

Après de longues applications, les microsystèmes API sont des bandelettes de test bien connues et fiables utilisées pour les études microbiologiques. Ils ont été étudiés et évalués avec d'autres méthodes et en raison de bons résultats revendiqués comme « étalon-or » par certains chercheurs (O'Hara C. M. 2005).

Deux membres de ce groupe, API 20E® et API 20NE® sont largement utilisés pour l'identification des bacilles à Gram négatif dans les laboratoires de microbiologie comme méthode de routine. Ces microsystèmes sont développés ces dernières années et la gamme API Microsystems est aujourd'hui très étendue.

Ces séries comprennent également d'autres sous-groupes pour les coques à Gram positif ou les bactéries anaérobies, etc.

Pour consulter les résultats en ligne, une énorme base de données est disponible sur le net.

API 20 E® était le premier système d'identification mis en place, combinant une bandelette de tests biochimiques et une base de données.

La gamme a été élargie, en collaboration avec des laboratoires de référence chargés dans le monde entier.

1.1. La galerie API 20 E :

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données. (17)

a. Principe :

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. (17,19)

b. Mode opératoire :

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21ème test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- Préparation de l'inoculum .

Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85% Medium (5 ml) ou une ampoule d'API Suspension Medium (5 ml), ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif. .

A l'aide d'une pipette ou d'une PSlpette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18–24 heures). •

Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Inoculation de la galerie •

Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la PSlpette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :

- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule,
- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules), pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18–24 heures. (17.18.19)

c. Résultats et Interprétation :

Tableau XIV: Tableau de lecture API 20-E :

Test	Composant actif	Réaction Enzymatique	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- βD- galactopyranosid	β-galactosidase(Ortho NitroPhényl- βDGalactopyranosidase) /	Incolore	Jaune
ADH	L-arginine	Arginine DiHydrolase	Jaune	Rouge - orangé
LDC	L-lysine	Lysine DéCarboxylase	Jaune	Rouge - orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine DéCarboxylase	Jaune	Rouge-orangé
CIT	Citrate	Utilisation du CITrate	Vert pâle - jaune	Bleu vert - Bleu
H2S	Sodium thiosulfate	Production d'H2S	Incolore - grisâtre	Dépôt noir - fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge - Orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane DésAminase	Jaune	Marron rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'INDole	Incolore-vert pâle-jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne	Incolore - rose pâle	Rose - Rouge
GEL	Gélatine	Gélatinase (GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation -oxydation (GLUcose)	Bleu - bleu-vert	Jaune - jaune gris
MAN	D-mannitol	Fermentation -oxydation (MANnitol)	Bleu - bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation - oxydation (INOsitol)	Bleu - bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	Fermentation - oxydation (SORbitol)	Bleu - bleu-vert	Jaune

Evaluation de la performance du système Vitek 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech

RHA	L-rhamnose	Fermentation - oxydation (RHAmnose)	Bleu - bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	Fermentation -oxydation (SACcharose)	Bleu - bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	Fermentation - oxydation (MELibiose)	Bleu - bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation -oxydation (AMYgdaline)	Bleu - bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation -oxydation (ARABinose)	Bleu - bleu-vert	Jaune



Figure 17 : Identification par la galerie API 20E de deux types d'entérobactéries :

A : Klebsiella Aerogenes

B : Enterobacter Cloacae

2. La galerie API 20 NE

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex : Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium, Aeromonas, etc.) combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données. (20,42)

2.1. Principe :

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés et révélés par l'addition de réactifs.

Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. (20.21)

2.2. Mode opératoire :

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21ème test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

Sortir la galerie de son emballage.

Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum •

Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85% Medium (5 ml) ou une ampoule d'API Suspension Medium (5 ml), ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif. •

A l'aide d'une pipette ou d'une PSpipette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18–24 heures). •

Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPG avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement. Pour éviter la formation des bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou la Pspipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

Ouvrir une ampoule d'API AUX Medium et y transférer environ 200ul de la suspension précédente.

Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation des bulles.

Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAL en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.

Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe.

Refermer la boîte d'incubation et incubé à 29°C pendant 24 heures. (20.21)\$

2.3. Résultats et interprétations :

Tableau XV : Tableau de lecture API 20 NE

Test	Composants actifs	Réaction enzymatique	Résultats	
			Négatif	Positif
NO3	Potassium nitrate	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction des nitrates en nitrites • Réduction des nitrates en azote 	Incolore Rose	Rose - rouge Incolore
TRP	L-tryptophane	Formation d'indole (tryptophane)	Incolore Vert pale Jaune	Rose
GLU	D-Glucose	Fermentation Glucose	Bleu vert	Jaune
ADH	L-Arginine	Arginine Di Hydrolase	Jaune	Rouge - orangé
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge - Orangé
ESC	Esculine citrate de fer	Hydrolyse esculine	Jaune	Gris/marron/noir
GEL	Gélatine	Gélatinase (GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl bD-Galactopyranoside	b-galactosidase	Incolore	Jaune
GLU	D-Glucose	Assimilation Glucose	Transparence	Trouble
ARA	L-Arabinose	Assimilation Arabinose	Transparence	Trouble
MNE	D-Mannose	Assimilation Mannose	Transparence	Trouble
MAN	D-Mannitol	Assimilation Mannitol	Transparence	Trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	Assimilation N-acétyl-glucosamine	Transparence	Trouble
MAL	D-Maltose	Assimilation Maltose	Transparence	Trouble
GNT	Potassium gluconate	Assimilation Potassium gluconate	Transparence	Trouble

Evaluation de la performance du système Vitek 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech

CAP	Acide caprique	Assimilation Acide caprique	Transparence	Trouble
ADI	Acide adipique	Assimilation Acide adipique	Transparence	Trouble
MLT	Acide malique	Assimilation Acide malique	Transparence	Trouble
CIT	Trisodium citrate	Assimilation Trisodium citrate	Transparence	Trouble
PAC	Acide phénylacétique	Assimilation Acide phénylacétique	Transparence	Trouble

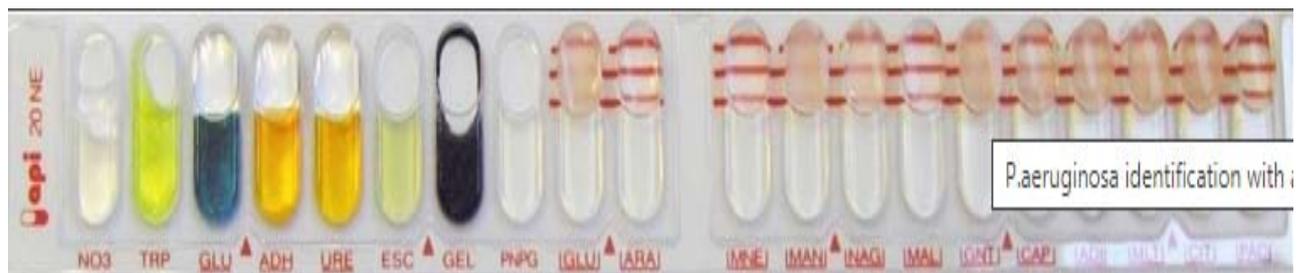


Figure 18 : Identification de Pseudomonas Aeruginosa par la galerie API 20 NE.

3. La galerie API Staph :

API® Staph est un système standardisé pour l'identification des genres Staphylococcus, Micrococcus et Kocuria comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données. (58)

3.1. Principe :

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification. (14-16)

3.2. Mode opératoire :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 mL d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex: Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- Préparation de l'inoculum
- Réaliser une préculture sur gélose Columbia au sang (ou Agar P) 18–24 H à 36°C ± 2°C.
- Vérifier l'appartenance de la souche à la famille des Micrococcaceae (morphologie, Gram, catalase...), ainsi que sa pureté.
- Ouvrir une ampoule d'API Staph.
- Préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18–24 heures). Cette suspension doit être utilisée extemporanément. Inoculation de la galerie
- A l'aide d'une pipette ou d'une PSlpette, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la PSlpette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Renfermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18–24 heures. (14–16)

3.3. Résultats et interprétations :

Tableau XVI : Tableau de lecture API staph :

Test	Composants actifs	Réaction enzymatique	Résultats	
			Négatif	Positif
GLU	D-Glucose	Témoin positif D-Glucose	Rouge	Jaune
FRU	D-Fructose	Acidification D-Fructose	Rouge	Jaune
MNE	D-Mannose	Acidification D-Mannose	Rouge	Jaune
MAL	D-Maltose	Acidification D-Maltose	Rouge	Jaune
LAC	D-Lactose	Acidification D-Lactose	Rouge	Jaune
TRE	D-Tréhalose	Acidification D-Tréhalose	Rouge	Jaune
MAN	D-Mannitol	Acidification D-Mannitol	Rouge	Jaune
XLT	Xylitol	Acidification Xylitol	Rouge	Jaune
MEL	D-Mélibiose	Acidification D-Mélibiose	Rouge	Jaune
NIT	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	Incolore - rose pale	Rouge
PAL	β -naphtyle phosphate	Phosphatase alcaline	Incolore beige-rosé, violet très pale	Violet
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	Incolore - rose pale	Violet - rose
RAF	D-Raffinose	Acidification Raffinose	Rouge	Jaune
XYL	D-Xylose	Acidification Xylose	Rouge	Jaune
SAC	D-Saccharose	Acidification Saccharose	Rouge	Jaune
MDG	Méthyl- α D- glucopyranoside	Acidification méthyl- α D-glucopyranoside	Rouge	Jaune
NAG	N-acétyl- glucosamine	Acidification acétyl- glucosamine	Rouge	Jaune
ADH	L-Arginine	Arginine Dihydrolase	Jaune	Orange- rouge
URE	Urée	Urease	Jaune	Rouge - violet



Figure 19 : Identification Staphylocoques par la galerie API Staph

- A : S.Aureus
- B : S.epidemidis
- C : S.haemolyticus
- D : S.intermedius.
- E : S.saprophyticus

4. Antibiogramme classique :

2.1. Introduction :

La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes incluant les bactéries à croissance lente ; elle permet une variété dans le choix des antibiotiques et ne requiert aucun matériel particulier. Comme la plupart des techniques de diffusion en gélose, la méthode de l'EUCAST est standardisée, se fonde sur les principes définis dans le rapport de l'International Collaborative Study of Antimicrobial Susceptibility Testing (1972) mais aussi sur l'expérience des experts du monde entier. (61)

2.2. Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture visible, réaliser une suspension bactérienne en solution salée pour atteindre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland.

Pour ce faire, prélever plusieurs colonies de même morphologie (si possible) afin d'éviter de sélectionner un variant atypique. (61)

Mettre ces colonies en suspension en milieu salé avec une ose stérile ou un écouvillon en coton. Cette méthode convient pour toutes les bactéries y compris à croissance lente dont : *Haemophilus* spp. *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, les streptocoques β hémolytiques.

Cette technique, qui reprend in extenso les recommandations EUCAST, et qui ne répond certainement pas à certaines situations d'urgence, n'exclut pas la possibilité de réalisation d'un antibiogramme direct sur la primo-culture sans repiquage pour des prélèvements (LCR, Hémoculture..) réalisés dans des situations d'urgence.

La suspension bactérienne est standardisée à l'aide du témoin 0,5 McFarland.

Un inoculum lourd engendre des diamètres plus petits et inversement.

Il est recommandé d'employer un spectrophotomètre pour ajuster l'inoculum. Cet appareil doit être calibré contre un étalon de la gamme de McFarland selon les recommandations du fabricant.

On peut également comparer à l'œil nu la turbidité de la suspension bactérienne à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland. Dans ce cas agiter vigoureusement l'étalon de turbidité sur un VortexR avant.

Pour faciliter la comparaison des deux échantillons, se placer face à un fond blanc avec des lignes noires.

Pour *S. pneumoniae* on préfère partir d'une gélose au sang et atteindre McFarland 0,5.

Pour ajuster la densité bactérienne au tube 0,5 McFarland, ajouter soit la solution salée soit les bactéries. (61)

2.3. Inoculation des géloses :

L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min. qui suivent sa préparation. Son emploi doit être fait au plus tard dans les 60 min. qui suivent sa préparation.

Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube.

Il est important de rejeter l'excès de liquide pour éviter une sur-inoculation des boîtes, en particulier pour les bactéries à Gram négatif.

Ecouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions ou en utilisant un ensementeur rotatif.

Si les boîtes sont abandonnées à la température du laboratoire trop longtemps avant le dépôt des disques, la bactérie peut commencer à croître conduisant à une fausse diminution de la taille des zones d'inhibition. (61)

2.4. Dépôts de disques imprégnés d'antibiotiques :

Les charges des disques sont indiquées dans les tableaux où figurent les concentrations critiques et le contrôle de qualité.

Déposer les disques fermement à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit.

Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.

Le nombre de disques déposés par boîte est limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques.

Il est important que les diamètres des zones d'inhibition soient mesurables. Le nombre maximum de disques est fonction de la bactérie et des antibiotiques car certains entraînent pour des souches sensibles, des zones très larges.

Un maximum de six disques convient pour les boîtes de 90 mm de diamètre, douze (ou seize) pour celles de 150 mm de diamètre et seize pour les boîtes carrées de 120 mm de côté.

Les disques d'érythromycine et de clindamycine doivent être placés à une distance de 12–20 mm bord à bord afin de détecter la résistance inductible aux lincosamides, chez les staphylocoques et les streptocoques.

La décharge des disques conduit à des zones d'inhibition réduites et constitue une source d'erreur habituelle.

Conserver les disques, y compris ceux en cartouches dans des conteneurs fermés avec un dessiccateur et à l'abri de la lumière (certains agents comme le métronidazole, le chloramphénicol et les fluoroquinolones sont inactivés en cas d'exposition prolongée à la lumière).

Placer le matériel pour les tests à une température inférieure à 8°C.

Pour éviter la condensation, laisser les disques revenir à la température ambiante avant d'ouvrir les cartouches. (61)

2.5. Incubation des boîtes de Pétri :

Les incuber idéalement dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min.

Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies.

Incuber les boîtes comme indiqué dans le Tableau 3.

Pour les glycopeptides et certaines souches d'entérocoques les colonies résistantes n'apparaissent qu'après une période de 24 h pleine d'incubation. Il est possible d'effectuer la lecture après 16 à 24 h et de répondre quand la souche est résistante.

Pour le Linézolide et les entérocoques et les staphylocoques, la résistance inductible peut nécessiter une incubation prolongée à 48 h pour être détectée.

Pour les anaérobies, lire après 48 h d'incubation. (61)

2.6. Lecture des boîtes après incubation :

Un inoculum et un ensemencement corrects doivent conduire à une culture confluyente.

La culture doit être répartie sur toute la surface de la gélose de façon à obtenir des zones d'inhibition circulaires.

La présence de colonies isolées indique que l'inoculum est trop faible pour ce, refaire le test.

Vérifier que les diamètres des zones d'inhibition soient dans les limites du contrôle de qualité. (61)

2.7. Mesure des zones d'inhibition et catégorisation clinique :

La bordure de la zone d'inhibition doit être lue à l'œil nu et au niveau de la complète inhibition de la culture ; la boîte étant placée à 30 cm de l'œil.

Ne pas tenir les boîtes face à une lampe (lumière transmise) ni employer une loupe grossissante.

Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle, un pied à coulisse ou un système de lecture automatisé.

Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les concentrations critiques.

Si des modèles sont employés pour interpréter les diamètres des zones d'inhibition, les boîtes de Petri doivent être placées sur le modèle et les zones d'interprétation sur le modèle doivent correspondre aux concentrations critiques CASFM / EUCAST. (61)

<p>Détermination de la CMI (par microdilution selon la norme ISO 20776-1, sauf pour le mécilinam et la fosfomycine, pour lesquels la méthode de référence est la dilution en milieu gélosé). Milieu de culture : bouillon Mueller-Hinton (conditions spécifiques pour le céfidérocol). Inoculum : 5×10^5 UFC/mL. Incubation : aérobiose, 35 ± 2 °C, 20 ± 4 h. Lecture : en l'absence d'indication particulière, la CMI correspond à la concentration la plus faible pour laquelle la croissance bactérienne n'est plus visible.</p>	<p>Méthode par diffusion en milieu gélosé. Milieu de culture : gélose Mueller-Hinton. Inoculum : 0,5 McFarland. Incubation : aérobiose, 35 ± 2 °C, 20 ± 4 h.</p>
<p>Contrôle de qualité : <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. Pour les antibiotiques qui ne sont pas contrôlés par cette souche, voir le chapitre 1.3 Contrôle de qualité.</p>	

Liste standard		Liste complémentaire	
Amikacine	Gentamicine	Acide nalidixique (dépistage)	Eravacycline
Amoxicilline ou ampicilline	Imipénème ou méropénème ¹	Azithromycine (<i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>)	Imipénème-relebactam
Amoxicilline-acide clavulanique	Lévofloxacine	Aztréonam	Méropénème-vaborbactam
Céfadroxil ou céfalexine	Mécililnam	Céfidérocol	Moxifloxacine
Céfépime	Nitrofurantoïne	Ceftaroline ou ceftobiprole	Ofloxacine
Céfixime	Pipéracilline	Ceftolozane-tazobactam	Péfloxacine (dépistage)
Céfotaxime ou ceftriaxone	Pipéracilline-tazobactam	Céfuroxime	Tigécycline
Céfoxitine	Témocilline ¹	Chloramphénicol	Tobramycine
Ceftazidime	Ticarcilline	Colistine	
Ceftazidime-avibactam¹	Ticarcilline-acide clavulanique	Déafloracine	
Ciprofloxacine	Triméthoprime		
Ertapénème	Triméthoprime-sulfaméthoxazole		
Fosfomycine			

Figure 20 : Liste des antibiotiques testés pour l'étude de sensibilité et la résistance des Entérobactéries : (61)

Evaluation de la performance du système Vitek 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech

<p>Détermination de la CMI (par microdilution selon la norme ISO 20776-1). Milieu de culture : bouillon Mueller-Hinton. Inoculum : 5×10^5 UFC/mL. Incubation : aérobiose, 35 ± 2 °C, 20 ± 4 h. Lecture : en l'absence d'indication particulière, la CMI correspond à la concentration la plus faible pour laquelle la croissance bactérienne n'est plus visible.</p>	<p>Méthode par diffusion en milieu gélosé. Milieu : gélose Mueller-Hinton. Inoculum : 0,5 McFarland. Incubation : aérobiose, 35 ± 2 °C, 20 ± 4 h (voir notes pour le linézolide).</p>
---	---

Liste standard		Liste complémentaire	
Acide fusidique	Gentamicine	Ceftaroline	Mupirocine
Ampicilline (dépiage)	Linézolide	Ceftobiprole	Nitrofurantoïne
Céfoxitine (dépiage)	Norfloxacine (dépiage)	Chloramphénicol	Oxacilline
Ciprofloxacine ou lévofloxacine	Quinupristine-dalfopristine ou pristinamycine	Dalbavancine, oritavancine ou télavancine	Pénicilline G
Clindamycine	Rifampicine	Daptomycine	Tédizolide
Erythromycine	Triméthoprim-sulfaméthoxazole	Délafloxacine	Téicoplanine
		Eravacycline	Tétracycline (dépiage)
		Fosfomycine	Tigécycline
		Kanamycine	Tobramycine
		Léfamuline	Triméthoprim
		Minocycline	Vancomycine
		Moxifloxacine	

Figure 21 : Liste des antibiotiques testés pour l'étude de sensibilité et la résistance des Staphylocoques : (61)

VII. Le système VITEK 2 compact :

1. Historique :

Au cours des 20 dernières années, une variété de systèmes automatisés pour l'identification et le test de sensibilité aux antimicrobiens (AST) des micro-organismes ont été développés sur la base de l'interprétation automatisée des résultats des tests biochimiques ou en utilisant des plateaux de micro dilution après une incubation nocturne et une détermination photométrique de la croissance. Les progrès technologiques susceptibles de fournir une identification bactérienne rapide et AST sont désormais reconnus comme présentant des avantages tant cliniques que financiers.

Le système VITEK a été créé dans les années 1970 en tant que système automatisé d'identification et d'AST, et il a évolué aujourd'hui en système VITEK 2, qui effectue automatiquement toutes les étapes nécessaires à l'identification et à l'AST après qu'un inoculum primaire a été préparé et normalisé.

2. Principe :

Entièrement automatisé, VITEK2 compact permet de réaliser des tests d'identification et d'antibiogramme rapides et précis.

Le système Vitek 2 Compact est destiné à l'identification des bactéries et levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes pour les bactéries significatives au plan clinique.

VITEK 2 Compact est un automate d'identification et d'antibiogramme qui offre toutes les avancées de VITEK 2, rendant ainsi la technologie de ce dernier accessible à tous les laboratoires.

VITEK 2 Compact est conçu pour les moyens et petits laboratoires qui souhaitent disposer d'un système automatisé capable de traiter la majorité de leurs tests de routine avec un rendu de résultats rapide. Les VITEK 2 60 et 120 (XL) sont destinés aux laboratoires de microbiologie effectuant un grand nombre de tests quotidiens.

VITEK 2 Compact et son logiciel Expert, AES™ offrent des avantages importants pour le biologiste, le clinicien et également pour le patient. En plus d'une grande fiabilité, le biologiste peut être certain de détecter des résistances même faiblement exprimées. Le clinicien dispose d'un rapport validé le jour même, et sera alerté en cas de résistance aux antibiotiques. Ce rapport permet au clinicien d'étayer son diagnostic, et, le cas échéant, de modifier l'antibiothérapie le plus précocement possible. Le patient, quant à lui, est rapidement soigné par un traitement antibiotique adapté. VITEK ® 2 et VITEK 2 Compact sont équipés du même logiciel pour la validation des tests de résistance aux antibiotiques et l'interprétation des résultats, Advanced Expert System (AES™). Ce logiciel expert permet d'identifier les mécanismes de résistance bactérienne, même les résistances émergentes ou de bas niveau. L'AES peut également contribuer à la détection d'infections nosocomiales, pour une mise en place rapide de mesures préventives. La gamme VITEK 2 bénéficie d'une performance accrue en matière d'identification bactérienne grâce à la technologie "Advanced Colorimetry™". Plus de 330 espèces microbiennes peuvent être identifiées grâce à une base de données optimisée et les nouvelles cartes d'identification colorimétrique VITEK 2. Cette base de données couvre plus de 95% des tests de routine en microbiologie. (60)



Figure 22: Automate d'identification et d'antibiogramme Vitek2

1. Interface utilisateur, écran et clavier
2. Porte de remplissage avec indicateur
3. Porte de chargement avec indicateur
4. Porte de collecte des déchets
5. Porte d'accès utilisateur
6. Densi Chekplus (densitomètre)
7. PC station de travail (environnement Windows + Logiciel de gestion du Vitek2 Compact)
8. Cassette avec des cartes ID et/ou AST (portoir)
9. Imprimante (non présentée)
10. Onduleur (non présenté)
11. Lecteur de code à barres (non présenté).

3. Technique :

La préparation de l'inoculum est toujours manuelle :

- Deux tubes secs contenant 3ml de solution saline sont utilisés l'un pour l'identification et l'autre pour l'antibiogramme.
- Avec une pipette, les colonies isolées sont sélectionnées et mises en suspension homogène dans les tubes précédents et bien mélangées avec le vortex.

Cette suspension bactérienne est standardisée selon les méthodes appropriées en utilisant le Densicheck Plus.

Le volume de l'inoculum doit être de 0,5 à 0,63 Mac Farland pour les bactéries Gram négatives et positives.

- Une carte d'identification et une autre d'antibiogramme, sont placées sur la cassette en plongeant les pailles de transfert dans les tubes contenant la suspension mère.
- Fermeture de la porte après le chargement de la cassette dans l'instrument (chambre d'inoculation).
- Le bouton « lancer le remplissage » est actionné ; un voyant lumineux indique au bout de 70 secondes que le cycle de remplissage est terminé.
- La cassette est retirée de la chambre d'inoculation puis placée à l'intérieur du lecteur-incubateur (dans un délai maximum de 10 minutes).
- Un voyant lumineux indique que le chargement des cartes est terminé. La cassette est retirée du lecteur-incubateur.
- L'instrument lit les codes à barres des cartes et de la cassette et envoie automatiquement les informations au logiciel. (60)

4. Description de la carte GN Vitek 2 d'identification des bactérie Gram négatif :

- La carte GN fait appel à des tests biochimiques conventionnels et à des substrats récemment développés mesurant l'utilisation des sources de carbone, l'activité enzymatique et la résistance. Il existe 47 tests biochimiques et un puits de contrôle négatif. Le puits de contrôle négatif décarboxylase (puits 52) est utilisé comme référence pour les tests décarboxylase. Les résultats définitifs sont obtenus en 10 heures maximum environ. (60)
-

Tableau XV: Composition des puits de la carte GN

Puits	Test	Mnémorique	Dosage/puits
2	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	APPA	0,0384 mg
3	ADONITOL	ADO	0,1875 mg
4	L-Pyrrolidonyl-ARYLAMIDASE	PyrA	0,018 mg
5	L-ARABITOL	IARL	0,3 mg
7	D-CELLOBIOSE	dCEL	0,3 mg
9	BÊTA-GALACTOSIDASE	BGAL	0,036 mg
10	PRODUCTION DE H ₂ S	H ₂ S	0,0024 mg
11	BÊTA-N-ACÉTYL-GLUCOSAMINIDASE	BNAG	0,0408 mg
12	Glutamyl ArylamidasepNA	AGLTp	0,0324 mg
13	D-GLUCOSE	dGLU	0,3 mg
14	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFÉRISE	GGT	0,0228 mg
15	FERMENTATION/GLUCOSE	OFF	0,45 mg
17	BÊTA-GLUCOSIDASE	BGLU	0,036 mg
18	D-MALTOSE	dMAL	0,3 mg
19	D-MANNITOL	dMAN	0,1875 mg
20	D-MANNOSE	dMNE	0,3 mg
21	BÊTA-XYLOSIDASE	BXYL	0,0324 mg
22	BÊTA-Alanine arylamidasepNA	BAlap	0,0174 mg
23	L-Proline ARYLAMIDASE	ProA	0,0234 mg
26	LIPASE	LIP	0,0192 mg
27	PALATINOSE	PLE	0,3 mg
29	Tyrosine-ARYLAMIDASE	TyrA	0,0276 mg
31	URÉASE	URE	0,15 mg
32	D-SORBITOL	dSOR	0,1875 mg
33	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC	0,3 mg
34	D-TAGATOSE	dTAG	0,3 mg

**Evaluation de la performance du système Vitek 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme
au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech**

35	D-TRÉHALOSE	dTRE	0,3 mg
36	CITRATE (SODIUM)	CIT	0,054 mg
37	MALONATE	MNT	0,15 mg
39	5-KETO-D-GLUCONATE	5KG	0,3 mg
40	Alcalinisation du L-LACTATE	ILATk	0,15 mg
41	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU	0,036 mg
42	Alcalinisation du SUCCINATE	SUCT	0,15 mg
43	Bêta-N-ACÉTYL-GALACTOSAMINIDASE	NAGA	0,0306 mg
44	ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL	0,036 mg
45	PHOSPHATASE	PHOS	0,0504 mg
46	Glycine ARYLAMIDASE	GlyA	0,012 mg
47	ORNITHINE DÉCARBOXYLASE	ODC	0,3 mg
48	LYSINE DÉCARBOXYLASE	LDC	0,15 mg
52	BASE DE DÉCARBOXYLASE	ODEC	N/A
53	Assimilation de la L-HISTIDINE	IHISa	0,087 mg
56	COUMARATE	CMT	0,126 mg
57	BÊTA-GLUCURONIDASE	BGUR	0,0378 mg
58	RÉSISTANCE O/129 (comp. vibrio.)	O129R	0,0105 mg
59	Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	GGAA	0,0576 mg
61	Assimilation du L-MALATE	IMLTa	0,042 mg
62	ELLMAN	ELLM	0,03 mg
64	Assimilation du L-LACTATE	ILATa	0,186 mg

5. Description de la carte GP Vitek 2 d'identification des bactérie Gram positif :

- La carte d'identification GP fait appel à des tests biochimiques conventionnelset à des substrats récemment développés. Il existe 43 tests biochimiques mesurant l'utilisation des sources de carbone, l'activité enzymatique et la résistance. Les résultats d'identification définitifs sont obtenus en 8 heures maximum environ. (60)

Tableau XVI : Composition des puits de la carte GP

Puits	Test	Mnémonique	Dosage/puits
2	D-AMYGDALINE	AMY	0,1875 mg
4	PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	PIPLC	0,015 mg
5	D-XYLOSE	dXYL	0,3 mg
8	ARGININE DIHYDROLASE 1	ADH1	0,111 mg
9	BÊTA-GALACTOSIDASE	BGAL	0,036 mg
11	ALPHA-GLUCOSIDASE	AGLU	0,036 mg
13	Ala-Phe-Pro ARYLAMIDASE	APPA	0,0384 mg
14	CYCLODEXTRINE	CDEX	0,3 mg
15	L-Aspartate ARYLAMIDASE	AspA	0,024 mg
16	BÊTA-GALACTOPYRANOSIDASE	BGAR	0,00204 mg
17	ALPHA-MANNOSIDASE	AMAN	0,036 mg
19	PHOSPHATASE	PHOS	0,0504 mg
20	Leucine-ARYLAMIDASE	LeuA	0,0234 mg
23	L-Proline ARYLAMIDASE	ProA	0,0234 mg
24	BÊTA-GLUCURONIDASE	BGURr	0,0018 mg
25	ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL	0,036 mg
26	L-Pyrrolidonyl-ARYLAMIDASE	PyrA	0,018 mg
27	BÊTA-GLUCURONIDASE	BGUR	0,0378 mg
28	Alanine-ARYLAMIDASE	AlaA	0,0216 mg

**Evaluation de la performance du système Vitek 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme
au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech**

29	Tyrosine-ARYLAMIDASE	TyrA	0,0276 mg
30	D-SORBITOL	dSOR	0,1875 mg
31	URÉASE	URE	0,15 mg
32	RÉSISTANCE À LA POLYMYXINE B	POLYB	0,00093 mg
37	D-GALACTOSE	dGAL	0,3 mg
38	D-RIBOSE	dRIB	0,3 mg
39	Alcalinisation du L-LACTATE	ILATk	0,15 mg
42	LACTOSE	LAC	0,96 mg
44	N-ACÉTYL-D-GLUCOSAMINE	NAG	0,3 mg
45	D-MALTOSE	dMAL	0,3 mg
46	RÉSISTANCE À LA BACITRACINE	BACI	0,0006 mg
47	RÉSISTANCE À LA NOVOBIOCINE	NOVO	0,000075 mg
50	CROISSANCE DANS DU NaCl À 6,5%	NC6.5	1,68 mg
52	D-MANNITOL	dMAN	0,1875 mg
53	D-MANNOSE	dMNE	0,3 mg
54	MÉTHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	MBdG	0,3 mg
56	PULLULAN	PUL	0,3 mg
57	D-RAFFINOSE	dRAF	0,3 mg
58	RÉSISTANCE O/129 (comp. vibrio.)	O129R	0,0084 mg
59	SALICINE	SAL	0,3 mg
60	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC	0,3 mg
62	D-TRÉHALOSE	dTRE	0,3 mg
63	ARGININE DIHYDROLASE 2	ADH2s	0,27 mg
64	RÉSISTANCE À L'OPTOCHINE	OPTO	0,000399 mg

Tableau XVII : Conditions de culture et d'incubation des souches destinées à l'identification et à l'antibiogramme sur Vitek 2 Compact.

Cartes Vitek	Milieu de culture Validé	Age de la Culture	Conditions D'incubation
Bacilles Gram négatifs	<ul style="list-style-type: none"> - Gélose Trypticase Soja - Gélose au sang - Gélose de Mac Conkey 	18-24 h	35-37°C, aérobiose
Cocci Gram Positifs	<ul style="list-style-type: none"> - Gélose Trypticase Soja - Gélose au sang 	12-48 h	35-37°C, aérobiose

La lecture des résultats se fait par un logiciel associé à la machine Vitek 2 compact.

Tableau XVIII : Niveaux de confiance pouvant être associés à un résultat d'identification avec la carte Vitek 2 :

Niveau de confiance d'identification	Probabilité d'identification correcte (%)	Commentaires
Excellent	96-99	Un seul taxon est proposé
Très bon	93-95	
Bon	89-92	
Acceptable	85-88	
Faible discrimination		Deux ou trois taxons présentent un profil similaire. Des tests complémentaires sont proposés par le système pour aboutir à une identification correcte.
Absence d'identification		Plus de trois taxons présentent un profil similaire ou le profil est atypique et ne correspond à aucune espèce de la base de données. Il est alors recommandé de vérifier la coloration de Gram et la pureté.

Les isolats de patients sont testés sur VITEK® 2 à l'aide d'une carte AST unique, autonome et jetable (Figure 5) propre à chaque isolat. Chaque carte contient au moins un puits de contrôle positif sans antibiotique (bouillon de culture élaboré pour la croissance uniquement) et plusieurs puits dont la concentration en antibiotiques dans le bouillon de culture est croissante.

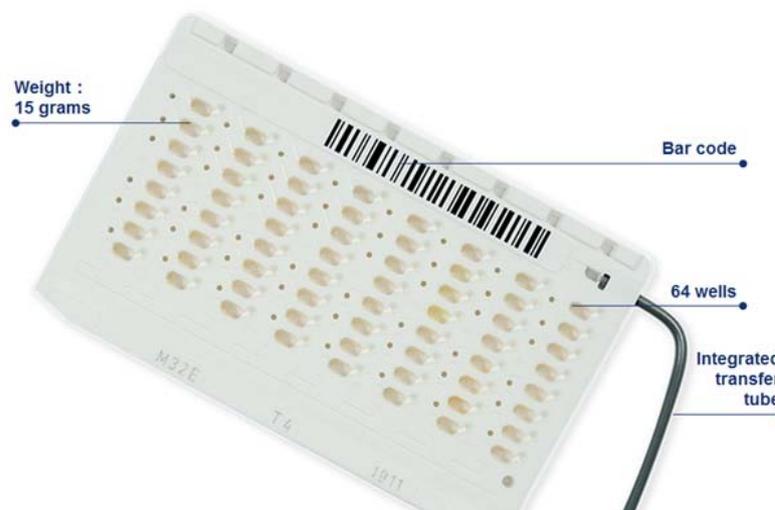


Figure 23 : Cartes AST VITEK® 2

VITEK 2 compact **contrôle la croissance en continu dans tous les puits.**

La croissance dans le puits de contrôle positif est surveillée jusqu'à ce qu'un seuil minimal prédéfini de croissance bactérienne soit détecté via des mesures de turbidité.

La croissance observée dans le puits de contrôle montre que l'isolat de test est viable et qu'il croît à une vitesse appropriée pour débiter l'analyse des différents puits contenant des antibiotiques. Cette analyse s'effectue toutes les 15 minutes, jusqu'à ce que le test de sensibilité soit achevé.

Comme la montre (la figure 25), la croissance des organismes est mesurée selon différentes méthodes, à la fois dans le puits de contrôle positif et dans les puits contenant les antibiotiques. La croissance relative des organismes observée dans chaque puits d'antibiotique est également comparée à la croissance relevée dans le(s) puits de contrôle positif. (60)

6. Détermination de la valeur CMI par le système vitek2 compact :

La CMI est déterminée en comparant la croissance de l'isolat du patient à la croissance des isolats dont on connaît les CMI.

Cette méthode revient à disposer d'une courbe standard enregistrée dans VITEK® 2, courbe capable de corréler les CMI de référence à l'activité des organismes dans les puits contenant des antibiotiques

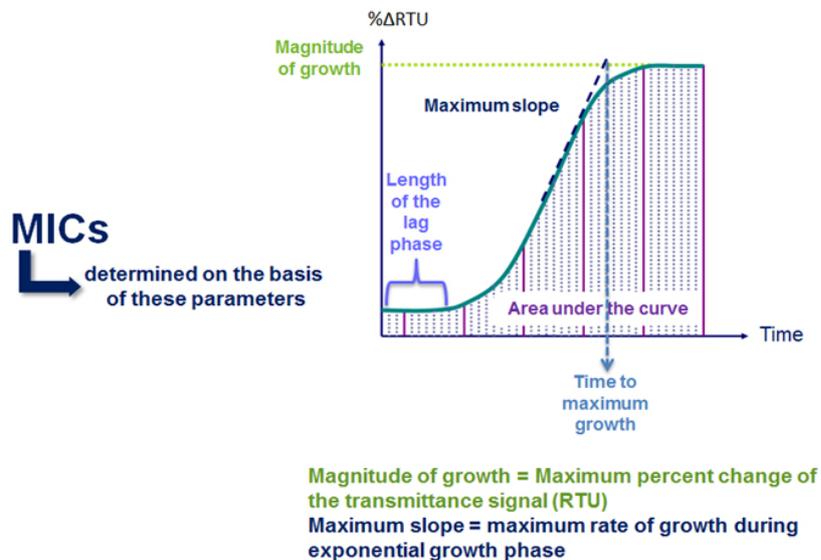


Figure 24: Principe des CMI de VITEK® 2

VITEK® 2 observe la croissance en continu et utilise de nombreux paramètres pour examiner cette croissance (contrairement à une mesure unique finale réalisée après une nuit d'incubation). C'est pourquoi il n'est pas nécessaire d'utiliser un puits pour chaque CMI rapportée.

Un seul puits suffit à fournir des informations pour plusieurs CMI, car l'activité des organismes dans un puits peut être interprétée sur une échelle qui fournit bien plus d'informations que la simple croissance. (60)

Tableau XIX : Liste des antibiotiques des carte AST -N357 et AST-P580.

Les Antibiotiques testés par le système Vitek 2	
AST-N357 (Carte entérobactéries)	AST-P580 (Carte staphylocoques)
Amikacin	Benzylpenicillin
Amoxicillin/Clavulanic Acid	Cefoxitin(Dépistage)
Ampicillin	Clindamycin
Cefalexin	Erythromycin
Cefotaxim	Fosfomycin
Cefoxitin	Fusidic acid
Ceftazidim	Gentamicin
Ciprofloxacin	Levofloxacin
Colistin	Linezolid
Ertapenem	Moxifloxacin
Fosfomycin	Mupirocin
Gentamicin	Nitrofurantoin
Imipenem	Oxacillin
Piperacillin/Tazobactam	Rifampicin
Ticarcillin	Teicoplanin
Tigecycline	Tetracyclin
Trimethropim/Sulfamethoxazole	Tigecyclin
	Tobramycin
	Trimethropim/Sulfamethoxazole
	Vancomycin

VIII. Discussion des résultats :

Cette étude, menée au laboratoire de microbiologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech, a permis d'évaluer la performance du système VITEK 2 compact sur le plan d'identification bactérienne et l'étude de l'antibiogramme comparativement aux techniques conventionnelles.

D'abord concernant la répartition globale des 81 prélèvements selon la coloration gram, 60% des souches isolées étaient gram négatif et 40% gram positif.

Escherichia coli reste l'espèce bactérienne la plus fréquente au sein des entérobactéries avec un taux d'isolement de 59%, suivie de Klebsiella pneumoniae (9,7%). Cette prédominance est rapportée dans plusieurs études, mais avec des fréquences variant entre 46% et 60% pour Escherichia coli, et entre 9 et 28% pour Klebsiella pneumoniae [22-23-24].

Proteus mirabilis et Enterobacter Cloacae sont moins fréquents avec des taux d'isolement de 5% chacun. Le même classement a été rapporté par Foulal et al en 2013 mais avec des taux moins importants de 2,2% rapporté par Lagha et al en 2015, alors que des taux de fréquence plus importants ont été rapportés par Jans et al en 2014. (23)

Tableau XX : Comparaison des taux de fréquence des Entérobactéries

Entérobactéries	Notre étude HMA Marrakech	Foulal 2013, Rabat [22]	Lagha, 2015, Algérie [24]	Jans et al. 2014, Suisse [23]
	(%)	(%)	(%)	(%)
Escherichia coli	59%	52	46,19	60,5
Klebsiella pneumoniae	9,7	25	27,67	9.5
Proteus mirabilis	5	4	2,22	9
Enterobacter cloacae	5	9	14,32	6
Klebsiella oxytoca	2	3	2,22	3

Staphylococcus Aureus reste l'espèce bactérienne la plus fréquente au sein des staphylocoques avec un taux d'isolement de 32%, suivie des autres staphylocoques à coagulase négative à noter 25% pour le staphylocoque Haemolyticus, 21% pour le staphylocoque Hominis et 14,2% staphylocoque Epidermidis.

Cette prédominance est rapportée dans plusieurs études, mais avec des fréquences variantes entre 32% et 50% pour Staphylocoque Aureus, entre 25% et 34% pour Staphylocoque Epidermidis et entre 9% et 12,5% pour le staphylocoque Haemolyticus.

Staphylocoque Capitis et Xylosus sont moins fréquents avec des taux d'isolement de 5% et 1% respectivement. Le même classement a été rapporté par Teresa et al en 2003 à Milan (32) et Ligozzi et al en 2001 à Vérone. (26).

Tableau XXI : Comparaison des taux de fréquence des Staphylocoques

Staphylocoques	Notre étude	Teresa et al	Ligozzi et al	Pedro et al.
	HMA Marrakech	2003, Milan[32]	2001, Vérone [26]	2009, Brazil [33]
	(%)	(%)	(%)	(%)
S.Aureus	32	32	50	39
S.Epidermidis	14,2	34	25	25,2
S.Capitis	5	4,4	2,5	9,2
S.Hominis	21	8	3,5	8,7
S.Hemolyticus	25	12,5	11,5	9,5
S.Xylosus	2	0,5	1	1

La présente étude a révélé que la précision du système VITEK 2 compact pour une identification directe et l'étude de sensibilité aux antibiotiques des bactéries gram négatifs et positifs varient selon l'espèce et l'antibiotique testé.

1. Sur le plan d'identification bactérienne :

Pour les deux types de bactéries, le niveau global élevé de concordance 92% pour les GN et 87,5% pour les Staphylococcus suggèrent que le système VITEK 2 compact est un outil adapté pour une identification directe et rapide des espèces bactériennes comparativement aux techniques conventionnelles.

Des résultats similaires ont été obtenus par diverses études antérieures dans lesquelles un niveau élevé de corrélation entre les deux méthodes a été observé.

Pour les bacilles Gram-négatifs, Nimer NA et al. a signalé un taux de concordance de 85,8%(34), et Kavipriya D et al. a signalé une corrélation de 97,3%(35).

Pour les staphylococcus, les résultats de notre étude sont en corrélation avec ceux de Ligozzi Met al. grâce à 92.5% (26) et Nimer NA et al. qui a signalé un taux de corrélation de 88.9% (34).

Tableau XXI : Corrélation d'identification des GN par VITEK 2/API 20E et API 20NE

Isolats		Notre étude	Nimer et Al(34)	Kavipriya et Al(35)
		HMA Marrakech	Jordanie	India
GN				
Entérobactéries	Escherichia coli	90%	100.0%	97.0%
	Enterobacter Cloacae	100%	100.0%	-
	Klebsiella Oxytoca	100%	100.0%	-
	Klebsiella pneumoniae	75%	95.7%	97.0%
	Total	90,24%	97.3%	97.0%
GN Non fermentants	Aeromonas salmonicida	100%	100.0%	-
	Pseudomonas aeruginosa	100%	80.0%	99.4%
	Acinetobacter Baumannii	100%	95.2%	95.8%
	Total	100%	92.5%	97.6%
Total des GN	Total	92%	95.8%	97.3%

Tableau XXII : Corrélation d'identification des Staphylocoques par VITEK 2/API Staph.

Isolats Staphylococcus	Notre étude	Ligozzi et Al (26)	Nimer et Al (34)
	HMA Marrakech	Italie	Jordanie
Staphylococcus Aureus	90,00%	99.0%	93.5%
Staphylococcus haemolyticus	100%	83.3%	100.0%
Staphylococcus capitis	75%	75.0%	
Staphylococcus epidermidis	75%	92.7%	100.0%
Staphylococcus hominis	75.0%	75.0%	
Staphylococcus xylosus	100.0%	100.0%	
Staphylococcus saprophyticus	100.0%	100.0%	
Total	87.5%	92.5%	88.9%

2. Etude de sensibilité des entérobactéries en utilisant la carte AST -N370 Vitek 2 comparativement à l'antibiogramme classique :

Pour les tests de sensibilité, seuls les entérobactéries correctement identifiées ont été prises en compte (n = 37 isolats).

Parmi les entérobactéries, la plupart des antibiotiques du panel Vitek2 compact ont montré une excellente concordance catégorielle de 100% sauf la céfoxitine et l'imipénème qui ont montré 97% et 94.5% pour la ciprofloxacine.

Le désaccord catégorique de la céfoxitine et l'imipénème était au niveau acceptable

(< 3%) en mE (Minor erreur) mais supérieure au niveau acceptable (>3%) pour la ciprofloxacine (5,3%) en mE.

Aucun désaccord catégorique de majeur erreur (ME) n'a été objectivé 0%.

Evaluation de la performance du système Vitek 2 d'identification bactérienne et d'antibiogramme au niveau de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech

Des résultats similaires ont été obtenus par diverses études dans lesquelles un niveau élevé de corrélation entre les deux méthodes a été observé dont Kavipriya D et al. a signalé une corrélation supérieure à 95% à tous les antibiotiques du panel Vitek2 testé (35), et au résultats de Bobenchik AM et al(36) .

Tableau XXIII : Performance Système VITEK 2 à l'étude de sensibilité des entérobactéries :

ATB testés sur 37isolats d'entérobactéries	Notre étude	Kavipriya D Et Al(35)	Ling TK Et Al(37)	Bobenchik Et Al (36)
	HMA Marrakech	India	China	USA
Amoxicilline	37(100%)	96.7%	-	-
Ampicilline	37(100%)	100.0%	-	100.0%
Amox/aclav	37(100%)	96.7%	-	99.0%
Pipéra/tazo	37(100%)	93.3%	84.7%	85.6%
Céfoxitine	36(97%)	98.3%	-	96.2%
Céftazidime	37(100%)	98.3%	92.5%	95.2%
Imipénème	36(97%)	95.0%	84.2%	96.2%
Amikacine	37(100%)	96.7%	94.3%	96.2%
Gentamicine	37(100%)	96.7%	95.6%	98.1%
Ciprofloxacine	35(94,5%)	96.7%	91.7%	96.2%
Tigecycline	37(100%)	98.3%	-	87.3%
Triméthoprime /Sulfamethoxazole	37(100%)	98.3%	-	100.0%

3. Etude de sensibilité des Staphylococcus en utilisant la carte AST -P580

Vitek 2 comparativement à l'antibiogramme classique :

Pour les tests de sensibilité, seuls les staphylococcus correctement identifiées ont été prises en compte (n = 28 isolats).

Parmi les Staphylocoques, la plupart des antibiotiques du panel Vitek2 compact ont montré une excellente concordance catégorielle de 100% et 97% pour l'oxacilline.

Le désaccord catégorique de l'oxacilline était au niveau acceptable (< 3%) en minor erreur (mE) pour tous les Staphylococcus.

L'erreur de corrélation du résultats VITEK 2 et l'antibiogramme classique est affichée à un résultat d'un staphylocoques epidermidis où Vitek 2 a donné une interprétation R alors que l'antibiogramme classique a montré une sensibilité.

Dans notre étude, l'erreur du système Vitek 2 compact à donner l'interprétation correcte était à cause d'une modification des PLP (CMI Oxacilline égale à 1 ou 2mg/l) associé à un test Céfoxitine Screen négatif .

Aucun désaccord catégorique de majeur erreur (ME) n'a été objectivé 0%.

Le système Vitek2 compact dans notre étude a donné une bonne performance dans la détermination de la résistance à la méthicilline, en particulier pour les Staphylococcus Aureus qui a montré une excellente concordance catégorielle de 100% et 95% pour les staphylocoques non-aureus.

Ce taux concorde à celui rapporté par Ligozzi M et Al (26) en Italie avec un accord de 97% et à l'étude de Bobenchik AM et Al (36) en USA aussi à 97% pour les staphylocoques Non Aureus.

D'autre coté pour la détermination de la résistance à la méthicilline aux staphylocoques Aureus dans notre étude a montré 100% de corrélation qui concordent aux résultats d'autres études similaires ; Ligozzi M et Al (26) rapporte une corrélation de 100% et Bobenchik AM et Al (36) aussi à 100%.

Tableau XXIV : Performance Système VITEK 2 à l'étude de sensibilité du Staphylocoque Aureus :

ATB testés sur 8 isolats de staph Aureus.	Notre étude	Ligozzi M et Al (26)	Bobenchik et Al (36)
	HMA Marrakech	Italy	USA
Oxacilline/Céfoxitine	8(100%)	100.0%	100.0%
Moxifloxacine	8(100%)	94.0%	
Gentamicine	8(100%)	100%	100.0%
Erythromycine	8(100%)	100%	96.0%
Clindamycine	8(100%)	100%	100.0%
Linézolide	8(100%)		100.0%
Teicoplanine	8(100%)	100.0%	100.0%
Triméthoprim /Sulfamethoxazole	8(100%)		100.0%

**Tableau XXV : Performance Système VITEK 2 à l'étude de sensibilité des Staphylocoques Non-
Aureus :**

ATB testés sur 20 isolats de staph Non-Aureus.	Notre étude	Ligozzi M et Al (26)	Bobenchik et Al (36)
	HMA Marrakech	Italie	USA
Oxacilline/Céfoxitine	19 (95%)	97.0%	97.0%
Moxifloxacine	20 (100%)	92.0%	
Gentamicine	20 (100%)	91.0%	94.0%
Erythromycine	20 100%)	90%	97.0%
Clindamycine	20 (100%)	94.0%	100.0%
Linézolide	20 (100%)	-	100.0
Teicoplanine	20 (100%)	93.0%	97.0%
Triméthoprim /Sulfamethoxazole	20 (100%)	-	100.0%



CONCLUSION



L'identification bactérienne et l'étude de l'antibiogramme jouent des rôles cruciaux dans le domaine de la microbiologie clinique et de la médecine. L'identification bactérienne consiste à déterminer l'espèce bactérienne responsable d'une infection, l'antibiogramme, d'autre part, évalue la réponse d'une souche bactérienne à différents antibiotiques en fournissant des informations sur la sensibilité ou la résistance d'une souche bactérienne à divers médicaments, ces deux processus sont fondamentaux pour la prise en charge clinique des infections bactériennes.

L'identification bactérienne et l'antibiogramme des souches sont des étapes manuelles au niveau des moyens classiques par contre, au niveau de l'automate Vitek 2 compact toutes les étapes sont automatisées sauf la préparation de la suspension bactérienne qui se fait manuellement.

Les moyens classiques restent très importants au laboratoire d'analyse pour l'identification et l'antibiogramme malgré les nouvelles techniques qui peuvent les remplacer essentiellement à cause de la rapidité des automates.

Au cours de notre étude, pour les deux types de bactéries, le niveau global élevé de concordance 92% pour les BGN et 87,5% pour les Staphylococcus suggèrent que le système VITEK 2 compact est un outil adapté pour une identification directe et rapide des espèces bactériennes comparativement aux techniques conventionnelles.

Parmi les entérobactéries, la plupart des antibiotiques du panel Vitek2 compact ont montré une excellente concordance catégorielle de 100% sauf la céfoxitine et l'Imipénème qui ont montré 97% et 94.5% pour la ciprofloxacine.

Parmi les Staphylocoques, la plupart des antibiotiques du panel Vitek2 compact ont montré une excellente concordance catégorielle de 100% et 97% pour l'oxacilline.

Le système Vitek2 compact dans notre étude a donné une bonne performance dans la détermination de la résistance à la méthicilline, en particulier pour les *Staphylococcus Aureus* qui a montré une excellente concordance catégorielle de 100% et 95% pour les staphylocoques non-aureus.

En conclusion de cette étude dédiée à l'évaluation de la performance du système Vitek 2 par rapport aux techniques conventionnelles dans le domaine de l'identification bactérienne et de l'antibiogramme, les résultats obtenus suggèrent une transition prometteuse vers l'utilisation de cette technologie innovante.

L'analyse comparative a révélé que le Vitek 2 présente une efficacité notable en termes de rapidité et de précision lors de l'identification des agents pathogènes et de la détermination de leur sensibilité aux antibiotiques. La réduction significative des délais pour obtenir des résultats, sans compromettre la fiabilité des données, souligne le potentiel considérable du Vitek 2 pour optimiser les processus microbiologiques. Cependant, il convient de noter que malgré ces avantages, la transition vers le Vitek 2 nécessiterait une évaluation continue de ses performances dans divers contextes cliniques et microbiologiques. Des considérations telles que la faisabilité économique et la disponibilité des ressources doivent également être prises en compte dans la décision d'adopter cette technologie à plus grande échelle.

En somme, les résultats de cette étude soutiennent l'idée que le système Vitek 2 représente une avancée significative dans le domaine de l'identification bactérienne et de l'antibiogramme, ouvrant la voie à des pratiques diagnostiques plus efficaces et à une prise en charge plus rapide et précise des infections bactériennes.



RESUMES



Résumé

Cette étude approfondie sur l'identification bactérienne et les tests de sensibilité aux antibiotiques met en lumière l'évolution constante de ces techniques cruciales dans le diagnostic des infections. Historiquement, les tests conventionnels étaient la norme, mais l'avènement de technologies modernes, telles que le système VITEK 2 compact, a considérablement transformé le paysage. L'automatisation croissante, notamment avec des dispositifs tels que VITEK 2 compact, offre une rapidité et une précision considérables par rapport aux méthodes traditionnelles. L'étude, menée au sein du service de bactériologie-virologie d'hôpital militaire Avicenne Marrakech, démontre la performance notable du système VITEK 2 compact comparativement aux moyens classiques.

Les résultats indiquent une concordance élevée, particulièrement chez les entérobactéries et les staphylocoques, suggérant que le VITEK 2 compact est un outil adapté pour une identification directe et rapide des espèces bactériennes. La résistance aux antibiotiques, évaluée par le système, a également montré des résultats prometteurs, soulignant son efficacité dans la détermination de la sensibilité des souches bactériennes. Cependant, malgré les avantages évidents en termes de rapidité et de précision, l'étude souligne la nécessité d'une évaluation continue du VITEK 2, prenant en compte des facteurs tels que la faisabilité économique et la disponibilité des ressources. En conclusion, cette recherche soutient l'idée que le système VITEK 2 représente une avancée significative dans le domaine de l'identification bactérienne et des tests de sensibilité aux antibiotiques, ouvrant la voie à des pratiques diagnostiques plus efficaces et à une gestion plus rapide et précise des infections bactériennes.

Abstract

This in-depth study on bacterial identification and antibiotic susceptibility testing highlights the constant evolution of these crucial techniques in infection diagnosis. Historically, conventional tests were the norm, but the advent of modern technologies, such as the VITEK 2 compact system, has considerably transformed the landscape. The increasing automation, notably with devices like VITEK 2 compact, offers considerable speed and precision compared to traditional methods. The study, conducted within the bacteriology-virology department of military hospital Avicenne Marrakech, demonstrates the notable performance of the VITEK 2 compact system compared to conventional means. The results indicate a high concordance, particularly in enterobacteria and staphylococci, suggesting that the VITEK 2 compact is a suitable tool for direct and rapid identification of bacterial species. Antibiotic resistance, assessed by the system, also showed promising results, highlighting its effectiveness in determining the sensitivity of bacterial strains. However, despite the evident advantages in terms of speed and precision, the study emphasizes the need for continuous evaluation of the VITEK 2, taking into account factors such as economic feasibility and resource availability. In conclusion, this research supports the idea that the VITEK 2 system represents a significant advancement in the field of bacterial identification and antibiotic susceptibility testing, opening the way to more effective diagnostic practices and faster, more precise management of bacterial infections. The study evaluates the performance of the Vitek 2 system in bacterial identification and antibiotic susceptibility testing, comparing it to conventional techniques. The results suggest that Vitek 2 offers notable efficiency, with increased speed and comparable or superior precision to conventional methods. This technology holds promising potential for improving microbiological processes by providing reliable results in reduced timeframes. However, ongoing considerations regarding clinical application, economic feasibility, and validation in diverse contexts are necessary before broader adoption. In conclusion, Vitek 2 represents a significant advance in bacterial identification and antibiotic susceptibility testing, paving the way for more efficient diagnostic practices in managing bacterial infections.

ملخص

تسلط هذه المراجعة الشاملة للتعرف على البكتيريا واختبار الحساسية للمضادات الحيوية الضوء على التطور المستمر لهذه التقنيات الحاسمة في تشخيص العدوى. تاريخياً، كان الاختبار التقليدي هو القاعدة، ولكن ظهور التقنيات الحديثة، مثل نظام VITEK 2 المدمج، قد أحدث تحولاً كبيراً في المشهد. توفر زيادة الأتمتة، خاصة مع الأجهزة مثل VITEK 2 Compact، سرعة ودقة كبيرة مقارنة بالطرق التقليدية. وتوضح الدراسة، التي أجريت داخل قسم علم البكتيريا والفيروسات في المستشفى العسكري ابن سينا مراكش، الأداء الملحوظ لنظام VITEK 2 المدمج مقارنة بالوسائل التقليدية.

تشير النتائج إلى توافق عالٍ، خاصة في البكتيريا المعوية والمكورات العنقودية، مما يشير إلى أن VITEK 2 Compact هو أداة مناسبة للتعرف المباشر والسريع على الأنواع البكتيرية. كما أظهرت مقاومة المضادات الحيوية، التي تم تقييمها بواسطة النظام، نتائج واعدة، مما سلط الضوء على فعاليتها في تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية. ومع ذلك، على الرغم من المزايا الواضحة في السرعة والدقة، تسلط الدراسة الضوء على الحاجة إلى التقييم المستمر لـ VITEK 2، مع الأخذ في الاعتبار عوامل مثل الجدوى الاقتصادية وتوافر الموارد. في الختام، يدعم هذا البحث فكرة أن نظام VITEK 2 يمثل تقدماً كبيراً في مجال تحديد البكتيريا واختبار الحساسية للمضادات الحيوية، مما يمهد الطريق لممارسات تشخيصية أكثر فعالية وإدارة أكثر سرعة وفي الوقت المناسب للعدوى البكتيرية المحددة.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Pina G, Raynaud D.**
Critères de choix d` une méthode d` identification – 2003
2. **Freney J, Renaud P, Leclercq R Et Riegl P.**
Précis de bactériologie clinique.
(2007). 2^e Ed ESKA. p153 et 1012 1013.
3. **Joly B, Reynaud A.**
Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic.
Edition Te. 2007. 3-182 p.
4. **Morice V.**
Chapitre 7 – Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants
[Internet].2003.Availablefrom:
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html>
5. **Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H.**
Bactériologie clinique.
2000. 602 p.
6. **Philippon A.**
Cours de bactériologie général : Entérobactéries.
Faculté de médecine Cochin-Port-Royal Paris, France. – 2000
7. **Decoster A.**
Entérobactéries [Internet]. FLM. 2005. p. 1-16.
Available from:
<http://anne.decoster.free.fr/btelechar/bpoly/enteroba05.pdf>
8. **Nauciel C.**
Bactériologie médicale.
2001. 275 p.
9. **Philippon A.**
Entérobactéries des bêtalactamines. EMC – Biol médicale.
Elsevier; 2008;3(4):1-18.

10. **Casey Al, Lambert Pa, Elliott Tsj.**
Staphylococci.
International Journal of Antimicrobial Agents. 1 mai 2007;29:S23–32.
11. **Bes M, Brun Y.**
Staphylococcus : actualités taxonomiques et identification.
Revue Française des Laboratoires.
1 mai 2002;2002(343):23–30.
12. **Yves LI, Michel G.**
Staphylococcus aureus.
Lavoisier; 2009. 301 p.
13. **Ploy Mc, Poyart C, Cattoir V, Denis F, Martin C.**
Bactériologie médicale: Techniques usuelles.
Elsevier Health Sciences; 2016. 599 p.
14. **Maddux R.L., Koehne G.**
Identification of Staphylococcus hyicus with the API STAPH Strip. (1982) J.
Clin. Microbiol., 15, 6, 984–986.
15. **Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover F.C.**
Manual of Clinical Microbiology.
8th Edition. (2003) American Society for Microbiology, Washington, D.C.
16. **Pascoli L., Chiaradia V., Mucignat G., Santini G.**
Identification of Staphylococci by the API STAPH, Sceptor, Rosco and Simplified Lyogroup
Systems.
(1986) Eur. J. Clin. Microbiol., 5, 6, 669–671.
17. **Brooks K.A., Jens M., Sodeman T.M.**
A Clinical Evaluation of the API Microtube System for Identification of Enterobacteriaceae.
(1974) Am. J. Med. Techn. 40, 55–61.

18. **Smith P.B., Tomfohrde K.M., Rhoden D.L., Balows A.**
API System : A multitube Micromethod for Identification of Enterobacteriaceae. (1972)
Applied Microbiol. 24, 449–452.
19. **Swanson E.C., Collins M.T.**
Use of the API 20E System to Identify Veterinary Enterobacteriaceae.
(1980)*J. Clin. Microbiol.* 12, 10–14
20. **Peladan F., Monteil H.,**
Identification of Pseudomonas, Flavobacterium and Alcaligenes with the API NE
System.(1988) *Path. Bio.*, 36, 187–192.
21. **Sogaard P.,Gahrn–Hansen B., Hui–Ping Z., Frederiksen W.**
An investigation of Three Cpmmercial Methods for Rapid Identification of Non–Enteric
Gram–Negative Rods.
(1988) *Acta Path. Microbio. Immunol. Scand. Sect.B*, 94,357–363.
22. **Foulal L, Zouhdi M.**
Profil Épidémiologique Des Entérobactéries Sécrétrices De Bêta Lactamases À Spectre
Élargi Diagnostiquées Au Sein Du Laboratoire De Microbiologie Du Chu De Rabat.
Universite Mohammed V– Souissi;
2013.
23. **Jans B, Glupczynski Y, Denis O.**
Surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les hôpitaux belges:
Rapport annuel 2013.
Santé publique Surveill | Décembre 2014 | Bruxelles, Belgique. 2014;
24. **Lagha N, Abdelouahid Da, Hassaine H.**
Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β
lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat.
Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen; 2015.

25. **Nadmi H, Elotmani F, Talmi M, Zerouali K, Perrier-Gros-Claude Jd, Timinouni M.**
[Antibiotic resistance profile of community acquired uropathogenic enterobacteria in El Jadida (Morocco)].
Médecine Mal Infect. 2010;40(5):303-5.
26. **Ligozzi M, Bernini C, Bonora Mg, De Fatima M, Zuliani J, Fontana R.**
Evaluation of the VITEK 2 System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Medically Relevant Gram-Positive Cocci.
Journal of Clinical Microbiology. mai 2002;40(5):1681-6.
27. **Appelbaum P.C., Stavitz J., Bentz M.S., Von Kuster L.C.**
Four Methods for Identification of Gram-Negative Nonfermenting Rods : Organisms more Commonly Encountered in Clinical Specimens.
(1980) J. Clin. Microbiol. 12, 271-278.
28. **Castillo C.B., Bruckner D.A.**
Comparative Evaluation of the Eiken and API 20E Systems and Conventional Methods *for Identification of Members of the family Enterobacteriaceae.*
29. **Mclaughlin J.K., Zuckerman B.D., Tenenbaum S., Wolf B.A.**
Comparison of the API 20E, Flow, and Minitex systems for the identification of enteric and nonfermentative bacteria isolated from cosmetic raw materials.
(1984) J. Soc. Cosmet. Chem. 35, 253-263.
30. **Radebold K., Essers L.**
Evaluation of the API-STAPH Micro-System for Routine Identification of Staphylococci.
(1980) Arzt. Lab 26, 236-238.
31. **Lampe A.S, Van Der Reijden T.J.K**
Evaluation of commercial test systems for identification of nonfermenters.
*(1984) Eur.J.Clin.Microbiol.*3, 301-305
32. **Spanu T, Sanguinetti M, Ciccaglione D, D'inzeo T, Romano L, Leone F, Et Al.**
Use of the VITEK 2 System for Rapid Identification of Clinical Isolates of Staphylococci from Bloodstream Infections.
Journal of Clinical Microbiology. sept 2003;41(9):4259-63.

33. **D'azevedo Pa, Siquiera I, Gugel J, Antunes Als, Secchi C, Pasternak J, et al.**
Evaluation of the automated system Vitek2 for identification and antimicrobial susceptibility testing of Brazilian Gram-positive cocci strains.
Braz J Infect Dis. avr 2009;13:107-10.
34. **Nimer Na, Al-Saa'da Rj, Abuelaish O.**
Accuracy of the VITEK 2 system for a rapid and direct identification and susceptibility testing of Gram-negative rods and Gram-positive cocci in blood samples. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal. 2016;22(3):193-200.*
35. **Kavipriya D, Prakash Ss, Dhandapani S, Rajshekar D, Sastry As.**
Evaluation of the Performance of Direct Susceptibility Test by VITEK-2 from Positively Flagged Blood Culture Broth for Gram-Negative Bacilli. *J Lab Physicians. déc 2021;13(4):374-9.*
36. **Bobenchik Am, Deak E, Hindler Ja, Charlton Cl, Humphries Rm.**
Performance of Vitek 2 for Antimicrobial Susceptibility Testing of Enterobacteriaceae with Vitek 2 (2009 FDA) and 2014 CLSI Breakpoints.
Journal of Clinical Microbiology. 19 févr 2015;53(3):816-23
37. **Ling Tk, Tam Pc, Liu Zk, Cheng Af.**
Evaluation of VITEK 2 rapid identification and susceptibility testing system against gram-negative clinical isolates.
J Clin Microbiol. août 2001;39(8):2964-6.
38. **Funke G, Monnet D, Debernardis C, Von Graevenitz A, Freney J.**
Evaluation of the VITEK 2 system for rapid identification of medically relevant gram-negative rods.
J Clin Microbiol. 1998 Jul;36(7):1948-52. PMID:9650942
39. **Lupetti A, Barnini S, Castagna B, Capria Al, Nibbering Ph.**
Rapid identification and antimicrobial susceptibility profiling of Gram-positive cocci in blood cultures with the Vitek 2 system.
Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010 Jan;29(1):89-95. PMID:19902279

40. **Bruins Mj, Bloembergen P, Ruijs Gj, Wolfhagen Mj.**
Identification and susceptibility testing of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* by direct inoculation from positive BACTEC blood culture bottles into Vitek 2.
J Clin Microbiol. 2004 Jan;42(1):7-11. PMID:14715724
41. **Towner Kj, Cockayne A.**
Molecular methods for microbial identification and typing.
London: Chapman and Hall; 1999.
42. **Bosshard Pp, Zbinden R, Abels S, Böddinghaus B, Altwegg M, Böttger Ec.**
16S rRNA gene sequencing versus the API 20 NE system and the VITEK 2 ID-GNB card for identification of nonfermenting Gram-negative bacteria in the clinical laboratory.
J Clin Microbiol. 2006 Apr;44(4):1359-66. PMID:16597863
43. **Hansen Ds, Jensen Ag, Nørskov-Lauritsen N, Skov R, Bruun B.**
Direct identification and susceptibility testing of enteric bacilli from positive blood cultures using VITEK (GNI+/GNS-GA).*Clin Microbiol Infect.* 2002 Jan;8(1):38-44. PMID:11906499
44. **De Cueto M, Ceballos E, Martinez-Martinez L, Perea Ej, Pascual A.** Use of positive blood cultures for direct identification and susceptibility testing with the vitek 2 system.
J Clin Microbiol. 2004 Aug;42(8):3734-8. PMID:15297523
45. **Maschmeyer G, Noskin Ga, Ribaud P, Sepkowitz Ka.**
Changing patterns of infections and antimicrobial susceptibilities. *Oncology (Williston Park).* 2000 Aug;14(8) Suppl 6:9-16. PMID:10989819
46. **Kangci, Kimsh, Parkwb, Leekd, Kimhb, Kimec, et al.**
Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome.
Antimicrob Agents Chemother. 2005 Feb;49(2):760-6. PMID:15673761

47. **Kaleta Ej, Clark Ae, Johnson Dr, Gamage Dc, Wysocki Vh, Cherkaoui A, Et Al.** Use of PCR coupled with electrospray ionization mass spectrometry for rapid identification of bacterial and yeast bloodstream pathogens from blood culture bottles.
J Clin Microbiol. 2011 Jan;49(1):345-53. PMID:21048006
48. **Jordana-Lluch E, Carolan He, Giménez M, Sampath R, Ecker Dj, Quesada Md, Et Al.** Rapid diagnosis of bloodstream infections with PCR followed by mass spectrometry. PLoS One.
2013;8(4):e62108. PMID:23626775
49. **Fitzgibbons Ln, Puls Dl, Mackay K, Forrest Gn.** Management of gram-positive coccal bacteremia and hemodialysis.
Am J Kidney Dis. 2011 Apr;57(4):624-40. PMID:21333430
50. **Orsini J, Mainardi C, Muzylo E, Karki N, Cohen N, Sakoulas G.** Microbiological profile of organisms causing bloodstream infection in critically ill patients.
J Clin Med Res. 2012 Dec;4(6):371-7. PMID:23226169
51. **Machen A, Drake T, Wang Yf.** Same day identification and full panel antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood culture bottles made possible by a combined lysis-filtration method with MALDI-TOF VITEK mass spectrometry and the VITEK2 system.
PLoS One 2014;9(2):e87870
52. **Höring S, Massarani As, Löffler B, Rödel J.** Rapid antibiotic susceptibility testing in blood culture diagnostics performed by direct inoculation using the VITEK®-2 and BD Phoenix™ platforms.
Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2019;38(3):471-478
53. **Coorevits L, Boelens J, Claeys G.** Direct susceptibility testing by disk diffusion on clinical samples: a rapid and accurate tool for antibiotic stewardship.
Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2015;34(6):1207-1212

54. **Jenkins Sg, Schuetz An.**
Current concepts in laboratory testing to guide antimicrobial therapy.
Mayo Clin Proc 2012;87(3):290–308
55. **Coyle Mb, Mcgonagle La, Plorde Jj, Clausen Cr, Schoenknecht Fd.**
Rapid antimicrobial susceptibility testing of isolates from blood cultures by direct inoculation and early reading of disk diffusion tests.
J Clin Microbiol 1984;20(3):473–477
56. **Nain J, Deepashree R, Tamang P, Et Al.**
Comparison of four different methods of smear preparation for gram staining of positively flagged automated blood culture bottles.
J Curr Res Sci Med 2018;4(2):98
57. **Clsi – Clinical And Laboratory Standards Institute.**
Performance standards for antimicrobial susceptibility testing – Fifteenth informational supplement.
Document M100–S18. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, US, 2008.
58. **Bannerman T.L.**
Staphylococcus, Micrococcus, and other catalasepositive cocci that grow aerobically, p. 384–404. In: PR Murray, EJ Baron, JH Jorgensen, MA Pfaller, RH Tenover, RH Tenover (eds), *Manual of Clinical Microbiology, American Society of Microbiology, Washington, D.C., 2003.*
59. **Yamazumi T.I.F., Diekema D.J., Pfaller M.A., Jones R.N.**
Comparison of the Vitek Gram–Positive Susceptibility 106 Card, the MRSA–Screen Latex Agglutination Test, and *mecA* Analysis for Detecting Oxacillin Resistance in a Geographically Diverse Collection of Clinical Isolates of Coagulase–Negative Staphylococci.
J Clin Microbiol 2001;39:3633–6.

60. **Vitek® 2 Compact – Identification microbienne entièrement automatisée pour l'industrie pharmaceutique – bioMérieux | bioMérieux – Microbiologie industrielle [Internet].**

[cité 14 nov 2023].

Disponible sur: <https://www.biomerieux-industry.com/fr/products/systeme-vitek-2-compact-didentification-microbienne-pour-les-applications-pharmaceutiques>

61. **Casfm / Eucast**

disponible sur :https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2023/06/CASFM2023_V1.0.pdf



قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف

والأحوال باذلاً وسعي في إنقاذها من الهلاك والمرض

و الألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، و أكتم

سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلاً رعايتي الطبية للقريب والبعيد، للصالح

والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنى، وأكون أخال لكل زميل في المهنة الطبية متعاونين

على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيتي، نقيّة مما يشينها تجاه

الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيد



تقييم أداء نظام تحديد البكتيريا والمضادات الحيوية VITEK 2 بالمستشفى العسكري ابن سينا بمراكش.

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2023/11/30
من طرف

السيد حمزة حداني

المزاداد في 30 يوليوز 1994 بأسفي
لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية :

VITEK 2 - تحديد الهوية البكتيرية - طرق كلاسيكية للمضادات الحيوية

اللجنة

الرئيس	السيد	س. زهير
		أستاذ في علم الأحياء الدقيقة
المشرف	السيد	م. ميلودي
		أستاذ مبرز في علم الأحياء الدقيقة والفيروسات
الحكام	السيدة	ل. ارسلان
		أستاذة في علم الأحياء الدقيقة والفيروسات
	السيد	ي. الكاموني
		أستاذ في علم الأحياء الدقيقة والفيروسات
	السيدة	ك. زحلان
		أستاذة في علم الأحياء الدقيقة والفيروسات